UNTERSUCHUNGEN AN ZELLKULTUREN ÜBER DAS VERHALTEN VON ALKALISCHER UND SAURER PHOSPHATASE AUS BENIGNEN UND MALIGNEN GEWEBEN DES WEIBLICHEN GENITALE

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Erlend Hansen

Rüdiger Uhr

Saarbrücken

1973

1974

Aus der Frauenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. H. LIMBURG

UNTERSUCHUNGEN AN ZELLKULTUREN ÜBER DAS VERHALTEN VON ALKALISCHER UND SAURER PHOSPHATASE AUS BENIGNEN UND MALIGNEN GEWEBEN DES WEIBLICHEN GENITALE

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1973

vorgelegt von

Erlend Hansen, geb. am 7.9.1946 in Warendorf und

Rüdiger Uhr, geb. am 18. 2.1944 in Aurich

DEKAN: Professor Dr. med. G.A. JUTZLER

REFERENTEN: Professor Dr. med. A. S. TRÄNEKJER
Professor Dr. med. K. H. BOOZ

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der letzten Prüfung: 27. 3. 74

Die vorliegende INAUGURALDISSERTATION zur Erlangung der Doktorwürde wurde als Gemeinschaftsarbeit von Herrn HANSEN und Herrn UHR durchgeführt. Die umfangreichen und zeitraubenden Versuchsvorbereitungen boten die Möglichkeit der Gemeinschaftsarbeit förmlich an. Die Methode zur Darstellung der Unspezifischen Phosphatasen an Gewebekulturen war sowohl für das Ovar als auch für das Endometrium die gleiche.

Die Ausarbeitung der Ergebnisse wurde von Herrn HANSEN für das Endometrium und von Herrn UHR für das Ovar durchgeführt.

INHALT

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	ALLGEMEINES ÜBER UNSPEZIFISCHE PHOSPHATASEN	4
C.	METHODE UND METHODENKRITIK	8
D.	ENDOMETRIUM	17
	I. Endometrium während des Zyklus	17
	1. Aufbau des Endometriums	17
	2. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Gewebsschnitten des Endometriums (Literaturangaben)	23
	3. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Endometria	34
	II. Carcinome des Corpus uteri	46
	1. Einteilung der Carcinome	46
	2. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase an Gewebsschnitten des Corpuscarcinoms (Literaturangaben)	48
	3. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Carcinomen des Corpus uteri	52
	III. Auswertung und Diskussion der Befunde	61

Seite

E. OVAR 71

I. Normales Ovar 71

1. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Gewebsschnitten des Ovars (Literaturangaben) 71

2. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Ovarien 73

II. Carcinome des Ovars und deren Metastasen 79

1. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase an Gewebsschnitten der Ovarialcarcinome (Literaturangaben) 79

2. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten Carcinomen des menschlichen Ovars 8o

III. Auswertung und Diskussion der Befunde 89

F. ZUSAMMENFASSUNG 93

G. SCHRIFTTUM 96

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547310_0065

A. EINLEITUNG

Das menschliche Endometrium und Ovar, die im Zentrum des weiblichen Genitaltraktes stehen, sind schon seit langer Zeit Objekt intensiver Forschung gewesen. Nach den histomorphologischen Arbeiten traten die histochemischen Färbemethoden in den Vordergrund. Die erst in den letzten dreißig Jahren aufgetretene neue Disziplin der Enzymchemie verfeinerte den Einblick und gab neue Aufschlüsse. Mit ihrer Hilfe konnte ein genaueres funktionelles Verstehen der Zellfunktionen erreicht werden, indem diese neue Methode anzeigte, daß mit dem Auftreten oder Anstieg der Enzymkonzentrationen Substanzen gebildet oder abgebaut werden, bevor man noch mit den üblichen Methoden der Histochemie deren Entstehen färberisch nachweisen konnte.

Auf der Suche nach Enzymen haben sich zwei Methoden herausgestellt. Erstens die Enzymbiochemie, die exakte rechnerische Aussagen gibt, wieviel Enzymaktivitäten oder Enzymeinheiten unter standardisierten Bedingungen vorhanden sind. Aufschlüsse darüber, in welchen Teilen des Cytoplasmas oder an welchen Zellbestandteilen das Ferment zu lokalisieren ist, gibt die Enzymbiochemie nicht, oder nur unter großen Schwierigkeiten. Anders verhält sich dies bei der Enzymhistochemie, mit deren Methode man zwar keine quantitative Aussage machen kann,

jedoch das Enzym intrazellulär zu bestimmten Arealen zuordnen kann. Die Enzymhistochemie gibt also an, in welchen Zellen und hier wiederum in welchem Teil der Zelle das untersuchte Enzym vorhanden ist.

Ein weiterer Schritt besteht nun darin, daß man das menschliche Endometrium und Ovar explantiert, homogenisiert und die Kulturen in vitro weiterzüchtet um dann an ihnen die enzymhistochemischen Nachweise durchzuführen. Gerade dieses Kulturverfahren hat in jüngster Zeit an Bedeutung gewonnen, da mit Hilfe dieses Verfahrens Kulturen von malignen Tumoren auf entsprechende Zytostatica ausgetestet werden. Diese Explantation und das anschließende Kulturverfahren stellt für die Zellen einen unphysiologischen Reiz dar. Inwieweit dieser Reiz oder die Reizbeantwortung durch die explantierte Zelle zu einer Veränderung ihrer Enzymaktivitäten führt, möchten wir anhand eines Enzyms - nämlich der Alkalischen und Sauren Phosphatase - untersuchen. Dabei stellten wir uns folgende zwei Aufgaben:

1. Wie verhalten sich die Alkalischen und Sauren Phosphatasen an in vitro gezüchteten normalen menschlichen Endometrien und Ovarien mit den in der Literatur angegebenen enzymhistochemischen Untersuchungen an Gewebsschnitten?

2. Wie verhalten sich die Alkalischen und Sauren Phosphatasen an in vitro gezüchteten carcinomatösen Endometrien und Ovarien mit den in der Literatur angegebenen enzymhistochemischen Untersuchungen an Gewebsschnitten?

B. ALLGEMEINES ÜBER UNSPEZIFISCHE PHOSPHATASEN

Bis heute ist es nicht möglich, die Enzyme direkt nachzuweisen. Nur durch einen technischen Hilfsgriff lassen sich die Fermente indirekt darstellen. Die Technik beruht darin, daß man den Fermenten ein Substrat anbietet, das sie zu spalten vermögen. Eines dieser beiden Spaltprodukte wird durch eine besonders dafür geeignete Substanz abgefangen und zu einem sichtbaren gefärbten Produkt ausgefällt (s. Abb. 1).

Wir haben in unserer Versuchsanordnung die Farbstoffmethode nach MENTEN benutzt. Das Substrat Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz wird durch die Phosphatasen gespalten. Das freie Naphthol wird mit dem Diazoniumsalz, Echtblausalz B, zu einem unlöslichen, rot gefärbten Komplex ausgefällt.

Im Fermentsystem gehören die Alkalischen und Sauren Phosphatasen zu der Gruppe der Hydrolasen und hier wiederum zu der Untergruppe der Esterasen. Heute unterscheidet man zwischen den speziellen Phosphoresterasen, die nur eine spezielle Phosphatverbindung zu spalten vermögen, und den allgemeinen oder auch unspezifischen Phosphatasen, die alle - auch unphysiologische Phosphatester - spalten können.

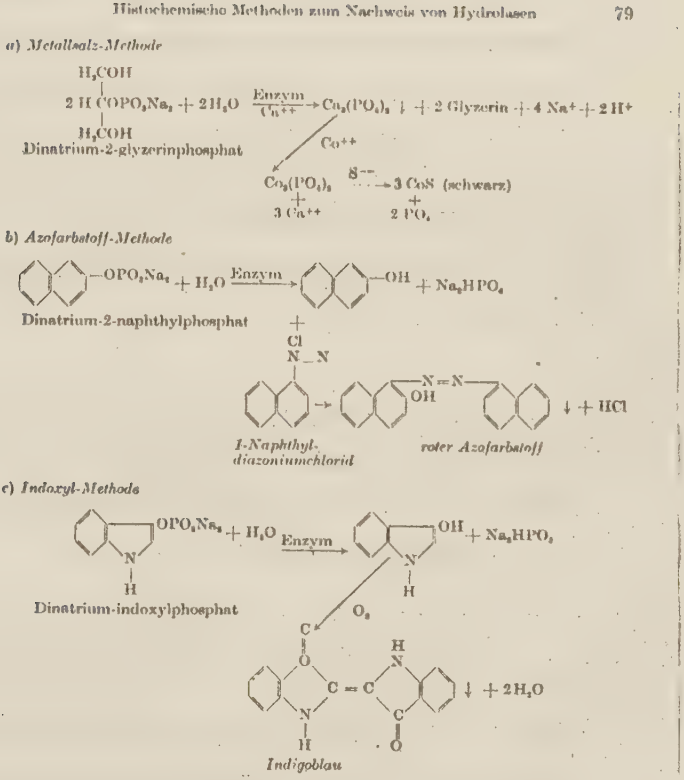

Abb. 1: Aus: Handbuch der Histochemie VII, 1 S. 79 (13)
Drei Methoden zum Nachweis der unspezifischen Phosphatasen.

a. Metallsalzmethode.
b. Azofarbstoffmethode.
c. Indoxylphosphatmethode (bei dieser liegen bisher noch keine vergleichende Untersuchungen zu den beiden anderen Methoden vor).

Nach MYRBÄCK (4o) handelt es sich bei den Phosphaten um hochmulekulare Albumine. Dabei variieren die unspezifischen Phosphatasen bezüglich ihrer biochemischen Daten innerhalb der Tierreihe von Art zu Art und von Organ zu Organ (13). Eine Art prosthetische Gruppe dürfte nach heutigen Ansichten durch ein anorganisches Komplement, nämlich Mg^{++}, gebildet werden; denn durch Cyanid und andere Verbindungen, die dieses ionisierte Metall binden, kann man die Aktivität der Phosphatasen aufheben.

Die unspezifischen Phosphatasen werden nach dem heutigen Stand der Forschung in Alkalische und Saure Phosphatasen unterteilt, wobei die letztere wieder in drei Untergruppen aufgegliedert wird (13).

Das hauptsächliche Betätigungsfeld der unspezifischen Phosphormonoesterasen ist die fermentative Hydrolyse mehrerer Monoestern der Orthophosphatsäure von Alkoholen (s. Abb. 2 a). Dieser Reaktionsablauf der Hydrolyse stellt für die spezifischen Phosphatasen wohl ihre einzige Funktion dar.

Anders liegen die Verhältnisse bei den unspezifischen Phosphatasen, die auch eine Umkehrung dieses Reaktionsablaufes, nämlich die Synthese katalysieren können

(4o, 48). Andere Autoren (4o, zit. n. DEANE (13): 9, 1o, 39, 5o) glauben sogar, daß unter physiologischen Bedingungen die Transphosphorylierung eine wesentliche Funktion der unspezifischen Phosphatasen darstellt (s. Abb. 2 b).

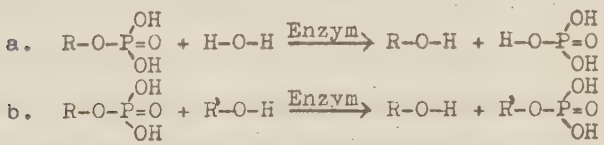

Abb. 2: Durch unspezifische Phosphatasen katalysierte Reaktionen.
a. Dephosphorylierung von alkoholischen Monoestern.
b. Transphosphorylierung.

Welches das physiologische Substrat der unspezifischen Phosphatasen ist, ist unbekannt. DEMPSEY (15) und MOOG (38) wiesen in ihren Arbeiten auf eine Korrelation zwischen diesen Fermenten und Nukleoproteinen und Glycogen hin, während SCHMIDT-MATTHIESEN (47) eher an einen Zusammenhang zwischen unspezifischen Phosphatasen und dem Auftreten von Mucopolysacchariden glaubt. Trotz all dieser Untersuchungen muß aber nochmals betont werden, daß das physiologische Substrat der unspezifischen Phosphatasen bis heute nicht gefunden ist.

C. METHODE UND METHODENKRITIK

I. Untersuchtes Gewebsmaterial

In unserer Arbeit untersuchten wir das Ovar einschließlich dessen Metastasen bei vorliegendem Ovarialcarcinom und das Endometrium des Corpus uteri. Während es sich bei dem Ovarialgewebe um Operationsmaterial beziehungsweise bei Ascites um dessen Punktat handelte, stammte das Endometrium einerseits von Operationen und andererseits von Abradaten. Nur ein Fall eines Pleurapunktats bei vorliegendem Adenocarcinom des Corpus uteri machte hier die Ausnahme.
Das ganze Material wurde histologisch diagnostiziert und die Diagnose durch einen weiteren Gutachter gesichert. Insgesamt wurden 15 Endometrien und 21 Ovarien untersucht.

Endometrien:

4 Endometrien in der Proliferationsphase
4 Endometrien in der Sekretionsphase
2 Endometrien bei cystisch glandulärer Hyperplasie
4 Adenocarcinome des Corpus uteri
1 Pleurapunktat bei vorliegendem Adenocarcinom des Corpus uteri

Ovarien:

3 histologisch normale Ovarien

5 cystisch veränderte Ovarien

1 Ovar mit Corpus albicans

6 Carcinome des Ovars

5 Ascites bei vorliegendem Ovarialcarcinom

1 Pleurapunktat bei vorliegendem Ovarialcarcinom

II. Kultivierungsverfahren

Das Kultivierungsverfahren des Gewebes erfolgte nach dem von LIMBURG und KRAHE (33) angegebenen Trypsinierungsschema in der Modifikation von DULBECCO und VOGT (16) auf Glimmerplättchen in Leighton Tubes. Das Verfahren sieht folgendermaßen aus:

Nachdem das steril entnommene Gewebe mit einer Schere auf einer breiten Petrischale zu einem groben Gewebsbrei zerkleinert worden ist, gießt man den Gewebsbrei mit einem Zusatz von o,25 - 2 % Trypsinlösung in einen Erlenmeyerkolben, wo er mit Hilfe eines Magnetrührers bei 37^{o} C weiter zerkleinert wird.

Die gelösten Einzelzellen werden nach 1o bis 2o Minuten möglichst ohne Gewebsanteile in einen zweiten sterilen Kolben gegossen. Um die weitere Trypsinierung der abgegossenen Zellsuspension zu unterbrechen, kühlt

man die Suspension mit Hilfe eines Eisbades auf 4^{o} C ab. Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, bis kein solides Gewebe mehr im Trypsinierungskolben vorhanden ist. Im Anschluß daran wird die gekühlte Zellsuspension durch eine Mullage grob filtriert, um dann bei 8oo bis 1 ooo Umdrehungen pro Minute zentrifugiert zu werden. Um eine Schädigung der Zellen durch Trypsin bei der Anzüchtung zu vermeiden, wird das Zellsediment mit PPS (phosphatgepufferte Lösung) ausgewaschen. Um einer bakteriellen Infektion vorzubeugen, wird dieser Lösung noch ein Antibiotikum zugesetzt (Streptomycin o,2 mg/ml, Penicillin 1oo E/ml). Anschließend wird das Zellsediment mit einer Nährflüssigkeit bis zu einer Zellzahl von 2 bis 4 Millionen lebender Zellen pro Milliliter verdünnt.

Die Nährflüssigkeit setzt sich wie folgt zusammen:

TCM (Morgan, Morton, Parker)	25,o
Hanks	55,o
Vitamine	5,o
Glutamine	5,o
Kalbserum	1o,o

Von der mit Nährflüssigkeit gemischten Zellsuspension wird 1 ml entnommen und in ein Leighton Tubes abgefüllt. Nachdem die Einzelzellen auf dem in dem Leighton Tube befindlichen Glimmerplättchen zu einem Zellrasen flä-

chenhaft ausgewachsen sind, was durchschnittlich 2 bis 4 Tage dauert, werden an ihnen die Alkalischen und Sauren Phosphatasereaktionen durchgeführt.

III. Färbung

Nach Entnahme der Glimmerplättchen aus der Leighton Tube mittels einer feinen Pinzette, stellt man die Plättchen senkrecht auf einen besonders dafür konstruierten Ständer und taucht diesen in eine Fixierungslösung für 5 Minuten. Die Fixierungslösung setzt sich folgendermaßen zusammen:

2o ml einer 3,15 %igen Natriumcitratlösung
2o ml einer 4,41 %igen Citronensäurelösung
6o ml reinsten Acetons.

Danach bringt man die Ständer für weitere 5 Minuten in ein, mit physiologischer Kochsalzlösung gefülltes Becken, um dann die Glimmerplättchen auf 4 weitere Ständer zu verteilen.

Ständer 1: Zum Nachweis der Alkalischen Phosphatase wird Ständer 1 in eine frisch angesetzte Lösung (Lösung auf + 2o° C erwärmt) eingetaucht. Die Lösung setzt sich wie folgt zusammen:

o,1 m. Barbiturat Natriumpuffer	1oo ml
Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz	1oo mg
Echtblausalz B	5o mg
pH Wert:	9,o

Ständer 2 (Kontrolle) wird in eine entsprechende Lösung getaucht, wie bei Ständer 1 beschrieben, nur fehlt hier das für die Phosphatasen notwendige Substrat Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz.

Ständer 3 wird zum Nachweis der Saure Phosphatase in eine frisch angesetzte Lösung (Lösung auf + 37° C erwärmt) eingetaucht. Diese Lösung setzt sich folgendermaßen zusammen:

o,1 m. Barbital-Acetatpuffer	1oo ml
Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz	75 mg
Rohrzucker	75 mg
Nach Lösung dieser Substanzen wurde Echtblausalz B zugegeben	5o mg
pH Wert:	5,o

Ständer 4 (Kontrolle) wurde in eine entsprechende Lösung gebracht, wie bei Ständer 3 beschrieben. Es fehlte dieser Lösung nur das Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz.

Die Inkubationszeit beträgt bei beiden Fermentnachweisen 4o Minuten.
Anschließend werden die Glimmerplättchen in Aqua dest. für weitere 5 Minuten gespült und nach Lufttrocknung mit Kaisers Glyceringelatine auf dem Objektträger eingebettet.

IV. Parameter zur Bestimmung der Alkalischen und Sauren Phosphatasen

Wie schon oben dargelegt, läßt die Enzymhistochemie im Gegensatz zur Enzymbiochemie nur qualitative und keine quantitativen Aussagen zu. Es steht also nur eine Aussagealternative zur Verfügung:
Positive Reaktion=Pigmentbildung=rotgefärbte Zellen
Negative Reaktion=keine Pigmentbildung=ungefärbte Zellen

Nach dieser Aussagealternative zählten wir unter dem Phasenkontrastmikroskop bei 4oofacher Vergrößerung pro Präparat 2 ooo Zellen aus.

V. Methodenkritik

1. Artefakt durch Einwirkung des Nährmediums können nicht beurteilt werden.
2. Gewöhnlich wird bei Enzymnachweisen mit unfixiertem Material gearbeitet, um somit physiologische Bedingungen zu erreichen. Dabei besitzen unfixierte Zellen ein noch weitgehend unbeschädigtes Plasmalemm und somit die Eigenschaft einer semipermeablen Membran, die manche Inkubationsgemische erschwert in die Zellen eindringen läßt. Durch kurze Fixierungszeiten kann man die Plasmalemmstruktur einerseits lockern und andererseits die Funktion und Struktur erhalten (1), jedoch mit dem Nachteil einer möglichen Difussion von Enzymproteinen aus der Zelle in den Extrazellulärraum (13). Allerdings erlaubt die Anordnung der Färbebänke nur, daß die Glimmerplättchen senkrecht in den einzelnen Becken stehen. Um zu verhindern, daß die Zellen von den Glimmerplättchen abrutschen, müssen sie vorher fixiert werden.
3. Bei der in Abschnitt B beschriebenen Methode zum Nachweis der Phosphatasen handelt es sich um eine Farbstoffmethode im Gegensatz zu der früher gebräuchlichen Metallsalzmethode (s. Abb. 1). Der bei unserem Versuch dargebotene Phosphatester ist gut löslich. Das nach enzymatischer Hydrolyse vorliegende Naphthol fällt aus. Im Gegensatz zur Metallsalzmethode, bei der als

Zwischenprodukt das Calciumphosphat entsteht, ist die Löslichkeit des Naphthols jedoch etwas größer (1). So entsteht im Hinblick auf die Verlagerung der Pigmentbildung vom Enzymwirkungsort weg eine größere Möglichkeit als bei der Metallsalzmethode. Berücksichtigt man auch noch die Fixierungseinflüsse, so ist leicht verständlich, daß zum Teil auch Pigmentniederschläge außerhalb der Zelle auftreten können.

4. Im allgemeinen ist die Inkubationszeit bei Enzymnachweisen gering, da oft bei längeren Zeitspannen eine Substratuntersättigung eintritt und die optimalen Bedingungen für die Enzymwirkung nicht mehr erreicht werden (13). Außerdem tritt bei zu langer Inkubationszeit auch eine Denaturierung des Enzyms ein. ARNOLD (1) gibt eine Inkubationszeit von 2o Minuten, DEANE und SELIGMAN (13) sogar nur von 1o Minuten an. Aus unseren Vorversuchen ergab sich dabei eine sehr geringe Pigmentbildung, die erst bei Verdoppelung dieser Zeitspanne deutlicher wurde, so daß wir eine Inkubationszeit von 4o Minuten für richtig hielten.
5. Wir haben nur die Aussagealternative:
   positive Reaktion = gefärbte Zelle,
   negative Reaktion = ungefärbte Zelle.
   Diese Alternative könnte man verfeinern, indem man

bei den gefärbten Zellen eine graduelle Abstufung der Färbereaktion durchführen würde. Das ist aber eine sehr subjektive Einteilung und da wir uns selbst oft nicht einig waren, in welche Kategorie man die Zellen einreihen sollte, haben wir diese Abstufung später wieder aufgegeben, obgleich graduelle Abstufungen von Zelle zu Zelle vorlagen.

Auf eine weitere, genauere Aufteilung, in welchem Teil der Zelle die Pigmentbildung besonders stark ausgeprägt ist, haben wir verzichtet, da die Vergrößerung von 4oo keine exakte Festlegung zuläßt.

6. Nach den Arbeiten von GROPP (23) soll man bei der Bewertung der Sauren Phosphatasen an in vitro gezüchteten Zellen eine gewisse Zurückhaltung üben. Seiner Meinung nach stellt die Explantation für die Zellen einen unphysiologischen Reiz dar, der von ihnen durch Anstieg dieses Ferments beantwortet wird.

D. ENDOMETRIUM

I. Endometrium während des Zyklus

1. Aufbau des Endometriums

Beim Studium der Literatur stellte sich heraus, daß die Versuche zum Nachweis der Alkalischen und Sauren Phosphatase an menschlichen Endometrien seit ungefähr 1o Jahren als abgeschlossen gelten. Nur wenige neuere Veröffentlichungen sind während der letzten Jahre über das Vorkommen dieser Fermente erschienen. Während bei den älteren Nachweisen die Methode nach GOMORI durchgeführt wurde, arbeitet man heute mit der Azokopplungsmethode nach MENTEN. Dabei stellte sich heraus, daß bei beiden Methoden die zytoplasmatische Verteilung der Enzyme identisch war. Nur ein signifikanter Unterschied wurde beobachtet:
Während mit der Gomorimethode ein intranukleäres Auftreten der Alkalischen Phosphatase beobachtet wurde (2), konnte man bei den Azokopplungsverfahren diese Lokalisation der Alkalischen Phosphatase nicht mehr beobachten. Dieser Unterschied wird heute so gedeutet, daß der intranukleäre Nachweis der Alkalischen Phosphatase bei der Gomorimethode als ein Artefakt angesehen wird (17).

Um ein besseres Verständnis der Lokalisation und Ver-

teilung der Phosphatasen im Endometrium zu erhalten, möchten wir eine Beschreibung und Einteilung des Endometriums nach der im heutigen Schrifttum vorherrschenden Meinung vorausschicken. Dabei beschränkten wir uns auf die jeweilige Gewebeart, in der Phosphatase vorkommt.

Histologisch teilt man die Schleimhaut des Corpus uteri während des Intermenstruums in zwei Stadien ein:

a) Proliferationsphase (mit Unterteilung in frühe und späte Proliferation).
b) Sekretionsphase (mit Unterteilung in frühe und späte Sekretion).

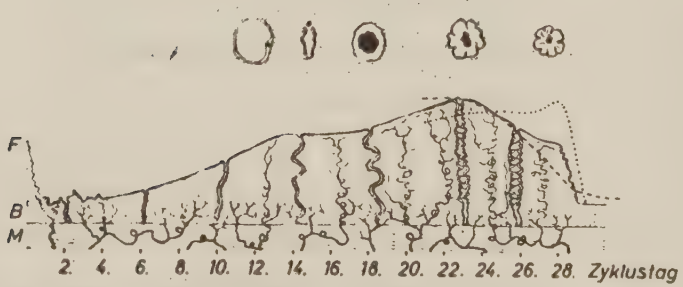

Abb. 1. Schema des Endometriumaufbaus im Zyklusablauf: F = Functionalis, B = Basalis, M = Myometrium; ... nach SCHRÖDER, - - - nach BARTELMEZ.

Abb. 3: Aus: Das normale menschliche Endometrium (47) S. 39.
Aufbau des Endometriums während des Zyklus.

Ad a)

Nachdem die Menstruationsblutung aufgehört hat und die Wundfläche gereinigt ist, epithelisiert sich die Basalis bis zum 5. Zyklustag wieder vollständig. Im weiteren Verlauf hebt sich diese frisch gebildete Lamina functionalis von der Basalis durch ein lockeres Bindegewebe ab. Während die Basalis im Verlaufe des Zyklus eine konstante Dicke von 1 bis 2 mm beibehält, wächst die Functionalis bis zur Zeit der Ovulation (ca. am 12. - 14. Tag) zu einer Dicke von 2,5 bis 3 mm heran. Dies wird vor allem durch die Retikulumzellen des Stromas verursacht, die sich durch mitotische Tätigkeit dauernd vermehren. Durch Einsprossen feinster Gefäße, die mit zunehmendem Wachstum des Stromas auch zunehmen, erlangt die neugebildete Schleimhaut eine ausreichende Versorgung. Retikulumfasern sind vorläufig zwischen den spindelförmigen Retikulumzellen nur selten zu beobachten, nehmen aber im weiteren Verlauf ständig zu und sind vor allem um die Drüsenschläuche herum zu finden. Diese Schleimhautdrüsen haben sich jetzt von den in der Basalis gelegenen Drüsenfundi regeneriert. Zuerst laufen sie noch schlauchförmig, eng und senkrecht zur Endometriumoberfläche. Das weitere Wachstum der Drüsen erfolgt einmal durch Nachschub von Drüsenzellen aus dem Fundus und zum anderen durch größere Mitosehäufigkeit der Drüsenzellen im gesamten Tubusverlauf.

Phasenkontrastmikroskopische Bilder der Tubuszellen ergeben folgenden Befund:

Die Epithelien sind hochzylindrisch und haben einen langovalen Kern, der in der unteren Hälfte der Zelle liegt. Das Cytoplasma ist fein granulär ohne besondere Einschlüsse. Der apikale Rand zeigt kleine villöse Gebilde, die lumenwärts gerichtet sind.

Ad b)

Im Anschluß an die Proliferationsphase setzt nun die Sekretionsphase ein, wobei es sich aber um einen fliessenden Übergang im histologischen Bild handelt. Während am Ende der Proliferationsphase die Functionalis ca. 1 bis 2 mm hoch war, wächst nun das Stroma weiter bis zu einem Maximum von 4 bis 5 mm, das je nach Autor zwischen dem 2o. und 27. Tag liegt. Dabei ist charakteristisch, daß sich im Stroma, das reich an pluripotenten Retikulumzellen ist und jetzt auch eine größere Zahl von Gitterfasern besitzt, eine Teilung in zwei verschiedene, zelldichte Abschnitte vollzieht:
Die obere subepitheliale zelldichte Schicht = Compacta. Die darunterliegende nicht so zelldichte Schicht = Spongiosa. Diese Unterteilung wird durch ein Oedem in der unteren Funktionalis hervorgerufen, dessen Ursache bis

jetzt noch nicht geklärt ist. Die Gefäßversorgung wird durch die während der Proliferationsphase angelegten Arterien und Arteriolen gewährleistet. Morphologisches Charakteristikum dieser Gefäße ist ihr spiraliger und korkenzieherartiger Verlauf. Drüsenschläuche, die sich in der Proliferationsphase noch langgestreckt mit engem Lumen durch die ganze Höhe des Endometriums hindurchgezogen haben, sehen jetzt sägeblatt- oder ziehharmonikaartig aus. Nur der Ausführungsgang der Drüsen, der in der oberen Compacta liegt, bleibt relativ gestreckt und eng. Die Lumina der Drüsenschläuche nehmen mit Fortschritt der Sekretionsphase immer mehr an Durchmesser zu. Am Ende der ersten Hälfte der Sekretionsphase kann man in diesen Drüsenlumina eine fein granuläre Masse nachweisen, die gegen Ende der Sekretionsphase immer mehr zunimmt und homogener wird.

Phasenkontrastmikroskopische Bilder der Tubuszellen zeigen folgenden Befund:

1. Frühe Sekretionsphase:

   In den Zellen sind die Kerne ziemlich weit von der Basis zum Apex verschoben. Zwischen Basis und Kern befindet sich eine große, homogene Masse, die mit Ausläufern am Kern vorbeizieht. Lumenwärts sind die in der späteren Proliferationsphase vorhandenen villös-polypösen Ausstülpungen zu größeren Gebilden zusammen-

geflossen, die sich schon teilweise abschnüren.

2. Späte Sekretionsphase:
   Die retronukleäre Masse hat sich am Kern vorbeigeschoben und ist in die polypösen Ausstülpungen eingedrungen, die sich jetzt als Sekretkugeln abschnüren (apokrine Sekretion). Diese Sekretkugeln werden in das Drüsenlumen abgestoßen und mit der Zeit aufgelöst, so daß in den Lumina dann eine homogene Masse vorliegt. Die Zellkerne wandern wieder in die Mitte oder bis zur Basis der jetzt deutlich kleineren Zellen.

2. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Gewebsschnitten des Endometrium (Literaturangaben)

a) Alkalische Phosphatase

aa) Stroma des Endometriums

Die Retikulumzellen zeigen während der Proliferationszeit keine Reaktion beim Nachweis der Alkalischen Phosphatase (7, 46). Nur während der frühen Sekretionsphase zeigt sich eine leichte Reaktion in den subepithelialen und um die Drüsenschläuche liegenden Stromazellen, die aber im weiteren Verlauf des Zyklus wieder verschwindet (46).

bb) Das Gefäßsystem des Endometriums

Nur die arterielle Seite des Gefäßnetzes zeigt eine deutliche Reaktion der Alkalischen Phosphatase (2, 46). Die Intensität dieser Reaktion ist abhängig von der lichten Weite des Gefäßes. Je kleiner die Weite desto intensiver die Färbung. Da die subepithelialen Arteriolen erst in der Mitte der Sekretionsphase deutlich ausgebildet sind, so ist auch in diesem Stadium die Alkalische Phosphatase am deutlichsten zu erkennen (47).

cc) Das Drüsen- und Oberflächenepithel des Endometriums

Der Fermentnachweis der Alkalischen Phosphatase gelingt außer im Gefäßsystem nur noch im Drüsenepithel, dem Oberflächenepithel und in den Drüsenlumina (47). Während in den Arteriolen und Kapillaren, abgesehen von der Aussprossung des Kapillarsystems während der Sekretionsphase keine Zyklusabhängigkeit zu finden ist, gelingt jedoch an der Epithelschicht ein zyklusabhängiger Nachweis dieses Ferments.

Während alle Autoren (2, 7, 11, 26, 28, 32, 36, 42, 43, 44, 46, 49, 51) über einen allmählichen Anstieg der Alkalischen Phosphatase bis zur Zeit der Ovulation berichten, gehen die Meinungen über einen Aktivitätsgipfel der Alkalischen Phosphatase auseinander.

BURZAKO (12) und RUNGE (44) nehmen einen Aktivitätsgipfel um den 14. Zyklustag an. Andere Autoren wie STOLL (49) und Mac KAY (36) beobachten dagegen einen Aktivitätsgipfel vor der Ovulation ohne einen Zyklustag anzugeben. Wiederum andere wie HUGHES (27) und OBER (42) sehen den Aktivitätsgipfel während oder kurz nach der Ovulation. Bei der Untersuchung des Endometriums bei cystisch glandulärer Hyperplasie findet man die Alkalische Phosphatase, die der späteren Pro-

liferationsphase entspricht oder noch stärker ausfällt (8, 26, 28, 32, 42, 44). Dabei wurde aber eine starke Variabilität in den einzelnen Drüsen beobachtet. Während manche sehr viel Alkalische Phosphatase enthielten, zeigten andere Drüsen fast gar keine Reaktion unabhängig vom Grad der cystischen Erweiterung (8). Andererseits fand OBER (42) bei schon langer bestehender Durchbruchblutung infolge der cystisch glandulären Hyperplasie eine deutliche Verminderung der Alkalischen Phosphatase, die er mit der Degeneration des Follikels und damit der Abnahme der Östrogenproduktion erklärte.

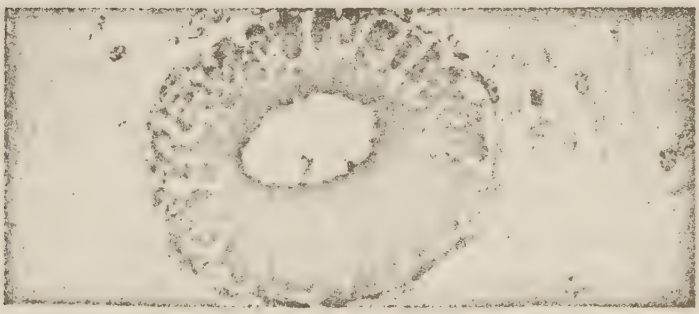

Abb. 4: Aus: Endocrinology 4o - 41, S. 33o (7). Alkalische Phosphatase in der späten Proliferationsphase.

Abb. 5: Aus: Cancer 1, S. 249 (8)
Alkalische Phosphatase bei cystisch glandulärer Hyperplasie.

Abb. 6: Aus: Endocrinology 4o - 41, S. 33o (7)
Alkalische Phosphatase in der späten Sekretionsphase.

Um den genauen Aktivitätsgipfel herauszufinden, haben manche Autoren an kastrierten Tieren die Versuche durch Applikation von Östrogenen und Progesteron jeweils allein, sowie durch eine Kombination von beiden durchgeführt. Dabei ergab sich, daß bei physiologischen Östrogengaben allein die Alkalischen Phosphatasen nach einer Latenz von 2 bis 5 Tagen positiv waren (3, 5, 6), während bei der Applikation physiologischer Progesterondosen allein der Nachweis dieser Fermente negativ ausfiel (3, 5). Bei der gleichzeitigen Applikation von Östrogenen und Progesteron konnte man jedoch eine Reaktion erkennen, die dem Ergebnis des Versuchs mit der alleinigen Zufuhr von Östrogenen entsprach (3, 5). Aus diesen Versuchen geht einerseits deutlich hervor, daß die Alkalische Phosphatase am Endometrium östrogenabhängig ist, aber ein genauer Aktivitätsgipfel läßt sich daraus nicht erkennen, da Progesteron keinen hemmenden Einfluß auf die positive Alkalische Phosphatasereaktion bei Östrogenzufuhr ausübt (43). Andererseits wird Östrogen auch in der zweiten Hälfte des Zyklus gebildet und fällt nicht unmittelbar nach dem Eisprung ab. Darum soll man nach SCHMIDT MATTHIESEN, ATKINSON und OBER (47, 43, 7) keinen zu großen Wert auf einen engumschriebenen Aktivitätsgipfel legen, sondern nur herausstellen, daß zur Zeit der Ovulation, das heißt in der späten Proliferationsphase

und in der frühen Sekretionsphase ein maximales Aktivitätsplateau erreicht ist.

Genauso einhellig wie man sich über den Anstieg der Alkalischen Phosphatase bis zum Aktivitätsplateau einig ist, bestehen auch über den Abfall der Alkalischen Phosphatase gegen Ende des Zyklus hin keine Meinungsunterschiede. Kurz vor Eintritt der Menstruation konnten die Autoren keine oder nur noch eine geringe Aktivität der Alkalischen Phosphatase nachweisen (2, 3, 5, 6, 7, 11, 26, 28, 32, 42, 43, 44, 46, 51).

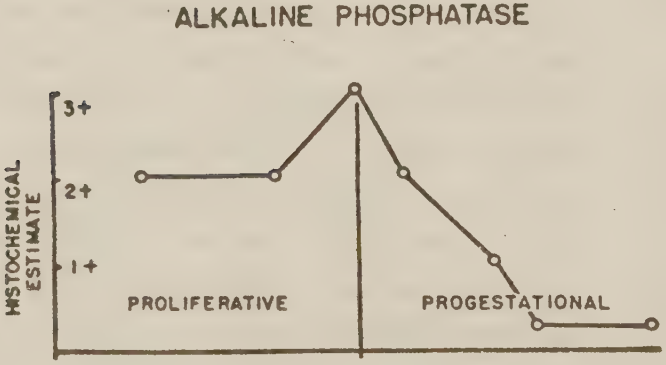

Abb. 7: Aus: Obstect. and Gynec. 8, S. 35 (36) Aktivitätskurve der Alkalischen Phosphatase während des Zyklus.

Intrazellulär ist die Alkalische Phosphatase am apikalen Randsaum lokalisiert und die Reaktionsstärke fällt zur Zellmitte hin ab. Um den Zellkern und an der Basis sind keine Alkalische Phosphatasereaktionen mehr zu sehen (2, 5, 6, 7, 11, 26, 47).

Auch beim Vergleich einzelner Epithelien von Fundus, Ausführungsgang und Oberfläche ergeben sich Unterschiede beim Nachweis der Alkalischen Phosphatase. So scheint die Alkalische Phosphatase in der Proliferationszeit vor allem am Oberflächenepithel schneller und stärker zuzunehmen als in den Tubulusepithelien, um in der Sekretionsphase bei einem allgemeinen Abfall dieses Ferments wiederum an den Oberflächenepithelien schneller abzufallen als an den Tubuluszellen (32).

In den Tubuluslumina findet man in der Proliferationsphase keine oder nur eine geringe Aktivität der Alkalischen Phosphatase (36, 12).

Im Verlauf des Zyklus nimmt jedoch die Alkalische Phosphatase immer mehr zu, um am Ende der frühen Sekretionsphase ein Maximum zu erreichen (2, 12, 36). Am Ende der Sekretionsphase findet man wie in den Tubulusepithelien keine Alkalische Phosphatase mehr in den Drüsenschläuchen.

b) Saure Phosphatase

aa) Stroma

Die Sauren Phosphatasen kommen, im Gegensatz zu den Alkalischen, auch im Stroma vor. Während in der Proliferationsphase nur einige Stromazellen an den Zelloberflächen die Reaktion geben, zeigen immer mehr dieser Zellen im weiteren Verlauf des Zyklus eine positive Reaktion. Dabei beschränkt sich die Saure Phosphatase nur auf die Zelloberfläche (11, 21, 19, 46).

bb) Das Gefäßsystem

Die Epithelien des Gefäßsystems enthalten weder auf der arteriellen noch auf der venösen Seite Saure Phosphatase (19, 46).

cc) Das Drüsen- und Oberflächenepithel des Endometriums

WISLOCKI (51), einer der ersten Untersucher der Sauren Phosphatase am menschlichen Endometrium gab an, daß dieses Ferment sowohl in der Proliferations- als auch in der Sekretionsphase vorhanden ist, ohne dabei einen Aktivitätsanstieg oder -abfall anzugeben. Andere Autoren, wie GOLDBERG (11, 21, 36) beobachteten jedoch einen Anstieg dieses Ferments von der frühen Proliferationsphase bis zu einem Maximum kurz vor der Menstruation. Da-

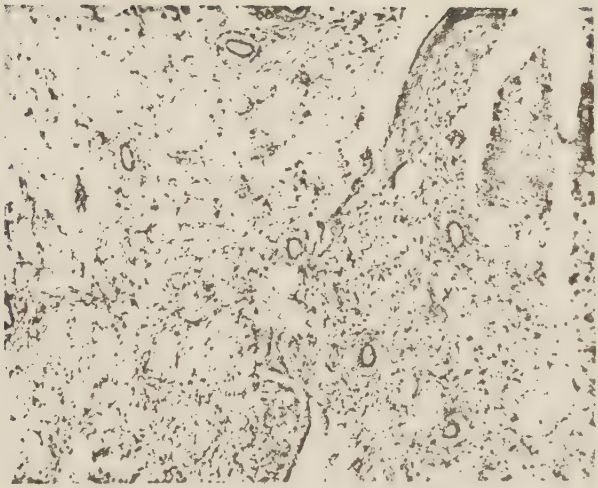

Abb. 8 a): Aus: Obstect. and Gynec. 7, S. 542 (21)
Saure Phosphatase in der frühen Proliferationszeit.

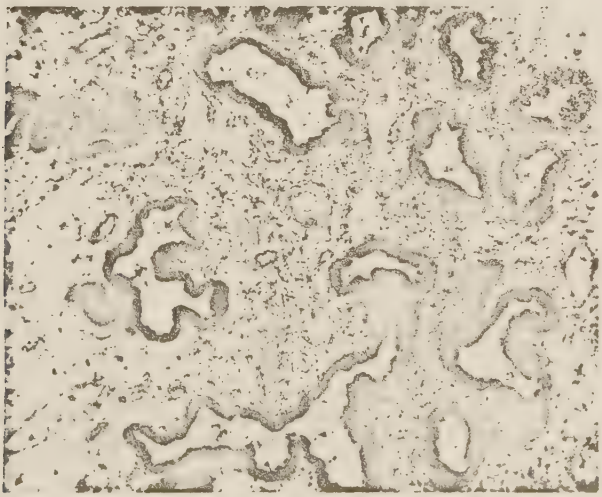

Abb. 8 b): Aus: Obstect. and Gynec. 7, S. 543 (21)
Saure Phosphatase in der späten Sekretionsphase.

bei ist das Verhalten der Sauren Phosphatase bei cystisch glandulärer Hyperplasie einer späten Proliferationsphase entsprechend einzuordnen (37).

Anhand der mikroskopischen Präparate stellte man fest, daß sowohl die Saure, wie auch die Alkalische Phosphatase vor allem an dem freien, lumenwärts gerichteten Rand der Drüsen- und Oberflächenepithelien zu lokalisieren sind. Im Verlaufe des menstruellen Zyklus kann man jedoch die Saure Phosphatase auch immer mehr im Cytoplasma selbst vorfinden, was bei der Alkalischen Phosphatase nicht der Fall ist (21). In den Drüsenschläuchen erscheint die Saure Phosphatase erst ziemlich spät, das heißt kurz vor dem Ende der Sekretionsphase (36).

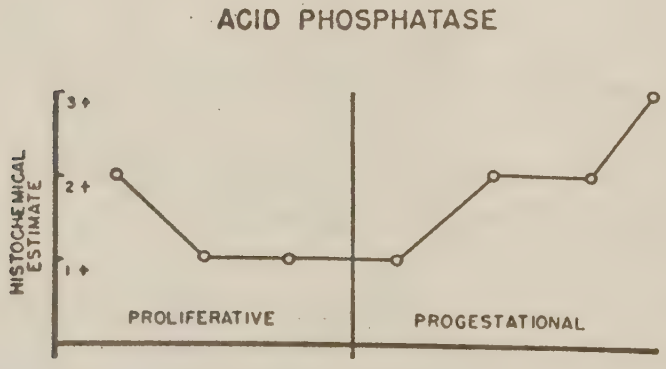

Abb. 9: Aus: Obstect. and Gynec. 8, S. 36 (36)
Aktivitätskurve der Sauren Phosphatase während des Zyklus.

Während für die Alkalische Phosphatase eine direkte Abhängigkeit von dem Östrogeneinfluß herausgestellt wurde (s. D I 2 a) cc)), ist bei den Sauren Phosphatasen keine eindeutige Beziehung zwischen ihrem Erscheinungsmaximum und dem Gestagenmaximum herausgefunden worden. Zwar läßt ihr vermehrtes Auftreten in der späten Sekretionsphase an einen Einfluß durch das Gelbkörperhormon denken, (46) aber dies experimentell darzustellen bietet gewisse Schwierigkeiten, da für die Sekretionsphase des Endometriums immer eine vorausgehende Proliferationsphase durch Östrogen Voraussetzung ist.

3. Eigene Untersuchungen zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Endometrien.

Im Gegensatz zu Gewebsschnitten, bei denen eine Zuornung der Zellen zu den einzelnen morphologisch definierten Gewebsschichten (wie 1) Oberflächenepithel und Drüsenzellen, 2) Stromazellen und 3) Kapillarendothel) möglich ist, kann man bei uns an den in vitro gezüchteten Homogenaten keine eindeutige Korrelation zwischen der Einzelzelle und der entsprechenden Gewebssicht feststellen. Auf dem heutigen Stand der Wissenschaft ist es nicht erlaubt, von einer Einzelzelle als Drüsen-, Stroma- oder Kapillarzelle zu sprechen. Es ist die Möglichkeit gegeben, anhand ihres Aussehens von einer drüsen-, stroma- oder endothelähnlichen Zelle zu sprechen. Diese Interpretation ist aber auch noch einzugrenzen, denn nach Auffassung von GROPP und HUPE (24) kann durch einen unphysiologischen Reiz, was ja das ganze Kulturverfahren darstellt, die pluripotente Stromazelle sich nach vielen Seiten hin differenzieren. So sprechen wir von einer drüsenähnlichen Zelle, obwohl es sich in Wirklichkeit um eine differenzierte Stromazelle handelt. Da auch in unseren Präparaten fließende Übergänge zwischen den einzelnen Zellarten vorhanden waren und die Meinungen, welcher Gewebeart die einzelnen Zellen zuzuordnen seien, stark auseinandergingen, haben wir auf diese Einteilung der Zellen verzichtet.

Im folgenden Teil geben wir nun eine Aufstellung des von uns untersuchten Materials:

Nr. 1527

Histologische Diagnose: Frühe Proliferationsphase
Hormonzufuhr: keine

Nr. 1552

Histologische Diagnose: Sekretorisch umgewandeltes Endometrium (späte Sekretionsphase) bei Adenomyosis uteri interna
Hormonzufuhr: unbekannt

Nr. 1573

Histologische Diagnose: Späte Proliferationsphase
Hormonzufuhr: keine

Nr. 1577

Histologische Diagnose: Cystisch glanduläre Hyperplasie bei Adenomyosis uteri
Hormonzufuhr: keine

Nr. 1578

Histologische Diagnose: Vollständig sekretorisch umgewandeltes Endometrium bei Adenomyosis uteri
Hormonzufuhr: keine

Nr. 159o

Histologische Diagnose: Vollständig sekretorische Umwandlung

Hormonzufuhr: unbekannt

Nr. 1591

Histologische Diagnose: Regelrecht entwickelte Sekretionsphase

Hormonzufuhr: keine

Nr. 16oo

Histologische Diagnose: Endometrium im Proliferationsbeginn

Hormonzufuhr: keine

Nr. 16o2

Histologische Diagnose: Cystisch glanduläre Hyperplasie bei Adenomyosis uteri

Hormonzufuhr: keine

Nr. 1622

Histologische Diagnose: Späte Proliferationsphase

Hormonzufuhr: keine

Tabelle I

Präp.Nr.	Zyklusphase	Alter in Jahren	Auswachs-zeit in Tagen	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen AP	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen SP	Prozent der gefärbten Zellen AP	Prozent der gefärbten Zellen SP
1527	frühe Prolf.	48	5	1905 / 95	-	4,75	-
1600	frühe Prolf.	41	4	1987 / 13	2000 / 0	0,65	0,00
1573	späte Prolf.	45	2	1811 / 189	1952 / 48	9,45	2,4
1622	späte Prolf.	59	1	1983 / 17	1999 / 1	0,85	0,05
1577	cyst.gl.Hyper.	44	2	1851 / 149	1988 / 12	7,45	0,6
1602	cyst.gl.Hyper.	40	2	1873 / 127	1975 / 25	6,35	1,25
1578	frühe Sekret.	47	1	1856 / 144	1921 / 79	7,2	3,85
1590	frühe Sekret.	47	5	1737 / 263	2000 / 0	13,15	0,00
1591	späte Sekret.	42	1	1988 / 12	1936 / 64	0,60	3,2
1552	späte Sekret.	31	3	2000 / 0	1935 / 65	0,00	3,25

Nach Vergleich der Prozentzahlen der gefärbten Zellen für Alkalische und Saure Phosphatasen mit der Auswachszeit in Tagen oder mit dem Alter der Patientinnen ergab sich keine Korrelation (s. Tab.I). Ein Vergleich mit dem jeweiligen Zyklusabschnitt fiel dagegen anders aus.

a) Alkalische Phosphatase

Bei unseren eigenen Versuchen machten wir die Beobachtung, daß die Alkalische Phosphatase während des Zyklusgeschehens zunimmt und in der frühen Sekretionsphase ihren Höhepunkt erreicht, um dann zum Ende des Zyklus hin steil abzufallen. Bei diesen Auswertungen ordneten wir die Präparate, bei denen eine cystisch glanduläre Hyperplasie vorlag, den Präparaten bei später Proliferation zu, da die cystisch glanduläre Hyperplasie nichts anderes darstellt als ein über längere Zeit unter Östrogeneinfluß stehendes Endometrium.

Abb. 1o a): Alkalische Phosphatase in der frühen Sekretionsphase an in vitro gezüchteten Endometrien.

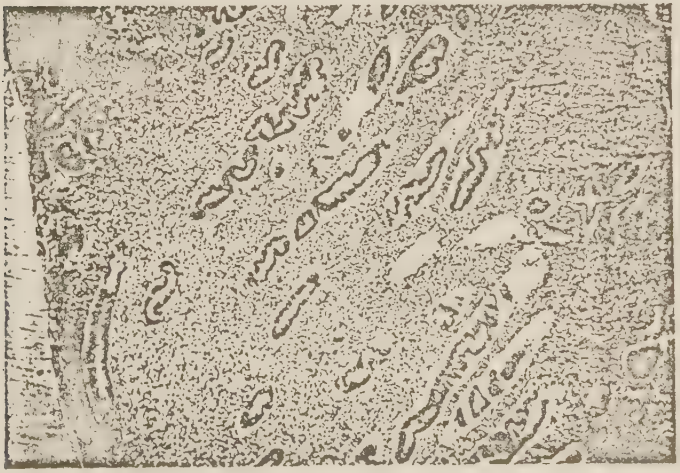

Abb. 1o b): Zu Abb. 1o a) gehöriges Bild der frühen Sekretionsphase im histologischen Präparat.

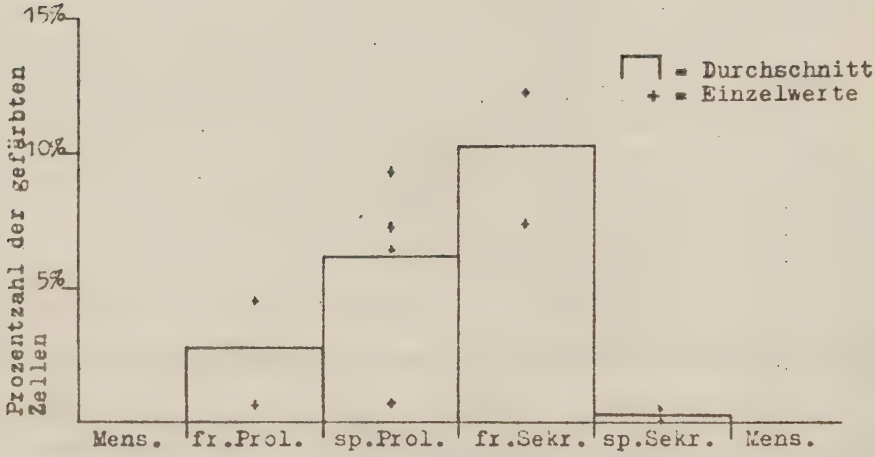

Abb. 11: Aktivitätskurve der Alkalischen Phosphatase während des Zyklus an in vitro gezüchteten Endometrien.

Bei der Betrachtung der Einzelzelle konnte man erkennen, daß die Reaktion der Alkalischen Phosphatase vor allem an drüsenähnlichen Zellen am stärksten ausgeprägt war. Es muß aber betont werden, daß die Alkalische Phosphatase nicht auf diese Zellart und schon gar nicht auf alle diese Zellen beschränkt war. Auch Zellen, die wir nach ihrem Aussehen als Stromazellen deuteten, wiesen oft eine Alkalische Phosphatasereaktion auf.

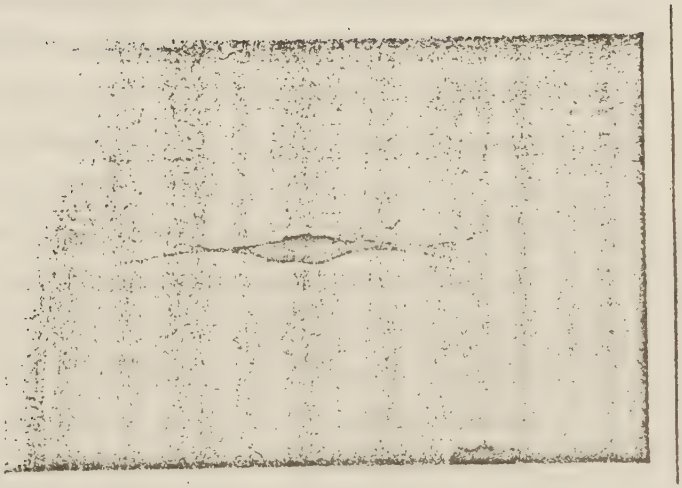

Abb. 12: "Fibrozyt" der Alkalische Phosphatase enthält.

Berücksichtigt man, daß die Zahl der Stromazellen wesentlich die der Drüsenzellen überwiegt, so ergibt sich für die in vitro gezüchteten Endometrien ein vermehrtes Auftreten der Alkalischen Phosphatase in Drüsenzellen gegenüber den Stromazellen.

War die Alkalische Phosphatase vorhanden, so fand sich eine Anreicherung nicht nur an einem Zellpol, sondern vielmehr an der ganzen Zellmembran und dem ihr anliegenden Cytoplasma. Allen Zellen, die stark gefärbt waren,

war auch eine deutliche Reaktion im ganzen Cytoplasma eigen, während bei schwach gefärbten Zellen nur die Zellmembran und einige Granula innerhalb des Cytoplasmas sich rot darstellten. Interessant war, daß bei den drüsenähnlichen Zellen sich auch eine Alkalische Phosphatasereaktion außerhalb der Zelle, aber in ihrer unmittelbaren Umgebung darstellte und zwar in Form von schlierigen Niederschlägen. Ob es sich dabei um einen Artefakt, nekrotische Drüsenzellen, oder um einen Sekretionsvorgang handelt, kann nicht eindeutig beurteilt werden. Sofern die schlierigen Niederschläge nur an einem Pol auftraten, darf man annehmen, daß es sich hierbei um eine Art Sekretion handelt. Schlierige Niederschläge um die ganze Zelle sind eher als ein Diffusionsartefakt zu interpretieren.

Abb. 13: "Sekretionszelle", die Alkalische Phosphatase enthält.

Ob der Kern gefärbt war oder nicht, läßt sich bei unseren Präparaten anhand der gefärbten Zellen schlecht beurteilen. Bei ungefärbten Zellen fand sich auch keine Kernfärbung für dieses Ferment. Bei gefärbten Zellen hatten wir teilweise den Eindruck, daß die Zellkerne eine Alkalische Phosphatasereaktion zeigten.

b) Saure Phosphatase

Wie bei der Alkalischen,so ergab sich auch bei der Sauren Phosphatase eine Abhängigkeit von der Zyklusphase. Anders als die Alkalische Phosphatase steigt die Aktivität der Sauren Phosphatase während des Zyklus von der frühen Proliferationsphase bis zur späten Sekretionsphase hin an, um hier ihr Maximum zu erreichen. Dabei waren die morphologischen Besonderheiten, die oben bei der Alkalischen Phosphatase beschrieben wurden, die gleichen.

Abb. 14 a): Saure Phosphatase zur Zeit der späten Sekretionsphase an in vitro gezüchteten Endometrien.

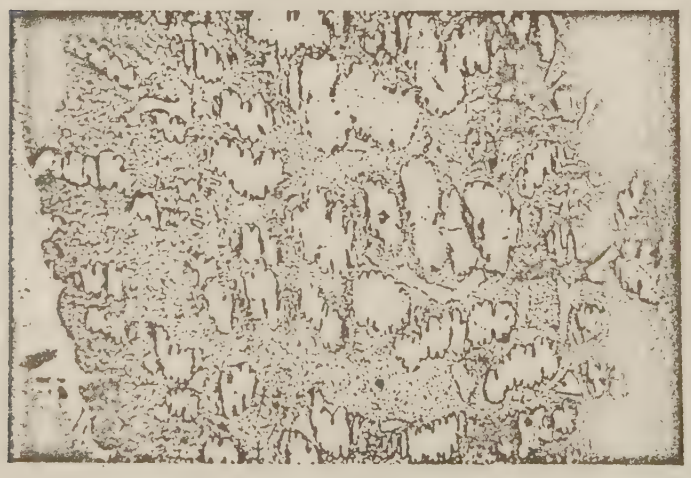

Abb. 14 b): Zu Abbildung 14 a) gehöriges Bild der späten Sekretionsphase im histologischen Präparat.

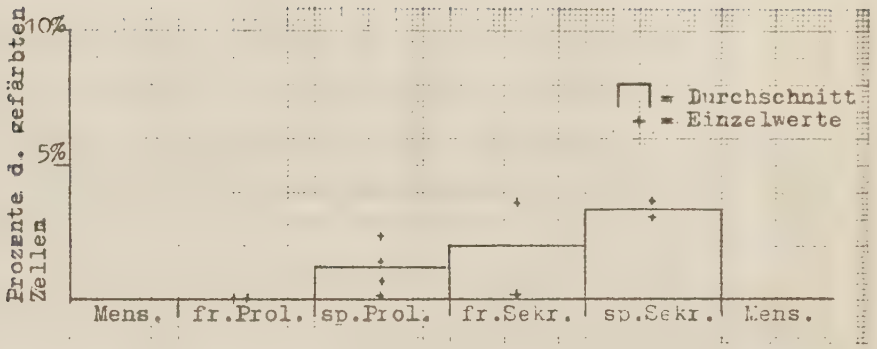

Abb. 15: Aktivitätskurve der Sauren Phosphatase während des Zyklus an in vitro gezüchteten Endometria.

II. Carcinome des Corpus uteri

1. Einteilung der Carcinome

Das Literaturstudium der Corpuscarcinome wurde dadurch erschwert, daß viele Autoren ihre eigene Einteilung benutzen. Nach der heute gebräuchlichen Einteilung nach KÄSER (3o) werden, abgesehen von einigen Sonderformen wie Adenokankroid, drei morphologisch histologische Hauptgruppen unterschieden:

a) Hochdifferenzierte Form

Hierbei handelt es sich um ein Adenocarcinom, das noch die typische Struktur seines Mutterbodens aufweist. Hochzylindrische, zytoplasmareiche Epithelien sitzen auf verschieden langen Papillen auf. Insgesamt zeigt diese Tumorform einen drüsig-papillären Charakter, so daß nur anhand der Zellatypien (Anisozytose, Makrokaryose, Hyperchromasie) der Nachweis eines bösartigen Tumors gegeben werden kann. Nach NOVAK (41) weisen bei dieser Gruppe ca. 25 % aller Zellen diese Merkmale auf.

b) Drüsig solide Form

Wie der Name schon sagt, bestehen bei dieser Tumorform zwei morphologische Charakteristica nebeneinander, wobei der eine oder andere Teil von Präparat

zu Präparat wechselt. Diese Tumorform macht 6o % aller Corpuscarcinome aus. Der drüsige Aufbau ähnelt weitgehend dem der Gruppe a). Die soliden Anteile setzen sich aus größeren und kleineren Nestern undifferenzierter Tumorzellen zusammen, die in den drüsigen Anteil eingestreut sind. Über 5o % aller Zellen weisen Kernatypien auf (41).

c) Undifferenzierte Form

Bei dieser Tumorform, die den geringsten Anteil aller Carcinome des Cavum uteri ausmacht, zeigen die Zellen keine Ähnlichkeit mit den Epithelien ihres Mutterbodens. Es sind keine drüsigen Anteile mehr auszumachen. Unreife Zellen mit allen Merkmalen der Kernatypien (über 75 % aller Zellen nach NOVAK (41)) herrschen im histologischen Schnitt vor. Je nach dem Vorhandensein von viel Parenchym oder viel Bindegewebe spricht man vom Carcinoma simplex medullare oder Carcinoma simplex cirrhosum.

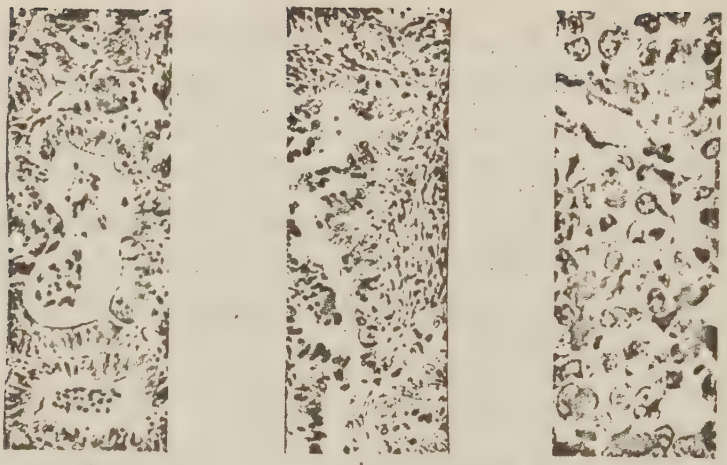

Abb. 16: Aus: KÄSER (31)
Die drei Hauptformen des Corpuscarcinoms im histologischen Präparat.
a. hochzylindrische Form
b. drüsig solide Form
c. entdifferenzierte Form

2. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase an Gewebsschnitten des Corpuscarcinoms (Literaturangaben)

a) Alkalische Phosphatase

Nach den bisher vorliegenden Ergebnissen erscheint die Alkalische Phosphatase auch im Endometriumcarcinom. Nur HALL (26) gibt aufgrund seiner Untersuchungen an, daß die Alkalische Phosphatase nicht im Adenocarcinom des Endometriums vorkommt. Die

Aktivität dieses Ferments, verglichen mit ihrem Vorkommen im normalen Zyklus, ist jedoch wesentlich geringer (8, 18, 32).

Es hat sich bei der Untersuchung des Corpuscarcinoms der verschiedenen Reifestadien herausgestellt, daß die Alkalische Phosphatase bei der hochdifferenzierten Form vorhanden ist und mit Abnahme der Differenzierung des Tumors zusehends verschwindet (4, 8, 18, 49, 32, 34, 35). Dabei ist der positive Ausfall der Alkalischen Phosphatase auf die freie Oberfläche der Tumorzellen beschränkt, sofern diese Zellen zu einem hochdifferenzierten Carcinom gehören (34, 35). Bei der undifferenzierten Form, bei der gewöhnlich keine Alkalische Phosphatase vorkommt, kann jedoch auch einmal ein positiver Nachweis dieses Ferments gelingen, wenn diese undifferenzierten Zellen eine Drüsenlichtung begrenzen (34).

Im allgemeinen wechselt die Alkalische Phosphataseaktivität beim Corpuscarcinom von Drüse zu Drüse (34), so daß eine eindeutige Aussage für die Alkalische Phosphatase nur von einem größeren Schleimhautbezirk möglich ist.

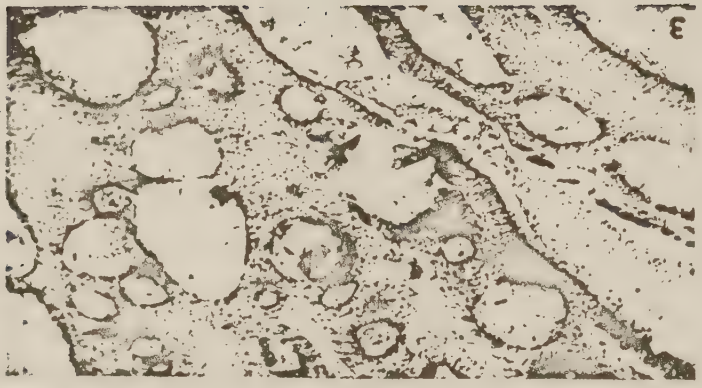

Abb. 17: Aus: Cancer 1, S. 249 (8)
Alkalische Phosphatase bei hochdifferenziertem Adenocarcinom im histologischen Präparat.

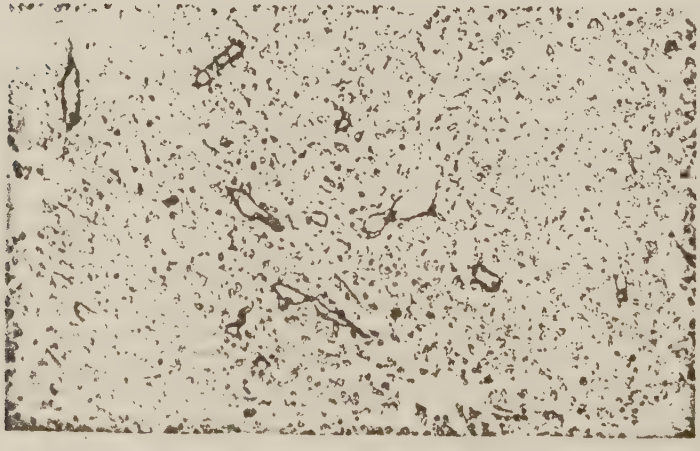

Abb. 18: Aus: Cancer 1, S. 25o (8)
Alkalische Phosphatase beim undifferenzierten Carcinom im histologischen Präparat.

b) Saure Phosphatase

Bei der Untersuchung der Sauren Phosphatase sind gewisse Vorbehalte angebracht, die bei der Methodenkritik aufgeführt sind. Zudem scheint nach Meinung von GROPP (23) ein Anstieg der Sauren Phosphatase bei allen malignen Wachstumsarten aufzutreten.

In der Arbeit von Mac KAY (37) zeigt sich, daß die Saure Phosphatase im Carcinomgewebe des Endometriums sehr stark vorhanden ist. Dabei wird keine Korrelation zwischen der Aktivität der Sauren Phosphatase und dem Differenzierungsgrad des Tumorgewebes gegeben. Das Erscheinen dieses Ferments im Tumorgewebe kann, wie bei der Alkalischen Phosphatase, von einer Stelle zur anderen sehr stark variieren. In bezug auf die intrazelluläre Verteilung ergibt sich, daß sowohl die Saure wie auch die Alkalische Phosphatase vor allem an den freien Enden der Oberflächen- und Drüsenepithelien zu lokalisieren sind. Jedoch scheint die Saure Phosphatase auch etwas im Cytoplasma selbst vorzukommen. In den Drüsenlumina findet sich beim hochdifferenzierten Carcinom eine hohe Aktivität dieses Ferments (37).

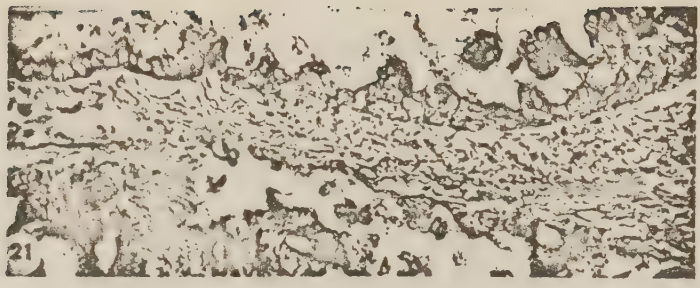

Abb. 19: Aus: Obstect. and Gynec. 8, S. 146 (37)
Saure Phosphatase beim Endometriumcarcinom im histologischen Präparat.

3. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Carcinomen des Corpus uteri

Bei dieser Untersuchung des neoplastisch veränderten Endometriums wollten wir auf eine genaue Korrelation zwischen Tumorzellen und der Alkalischen und Sauren Phosphatase hinarbeiten. Wir hätten uns also bei jeder Einzelzelle, die wir auszählten, festlegen müssen: Handelt es sich hier um eine Tumorzelle oder um eine Normalzelle? Hier besteht aber auch dieselbe Einschränkung, die wir bereits bei der Untersuchung des Endometriums während des Zyklusablaufes gemacht haben (s. D I 3), nämlich, daß von

einer Einzelzelle nicht auf ihre Herkunft aus einer bestimmten Gewebeart geschlossen werden darf. Dasselbe gilt auch für die einzelne Tumorzelle. Zwar kann man bei den Tumorzellen einige besonders charakteristische Merkmale feststellen wie Hyperchromasie, Makrokaryozytose, Anisozytose und polynukleäre Zellen, aber alle diese Zeichen gelten nur für die Einzelzelle innerhalb eines Gewebeverbandes und nicht für eine einzelne, aus dem Verband herausgelöste Zelle. Wir haben deshalb auch eine quantitative Auszählung der gefärbten oder nicht gefärbten Tumorzelle unterlassen und bei den Präparaten allein einige Besonderheiten aufgeführt.

Folgende neoplastische Endometrien wurden untersucht:

Nr. 1525

Klinische Diagnose: Corpus Neoplasma I
Hormonzufuhr: keine
Vorbehandlung mit Zytostatica oder Strahlen: keine
Histologische Diagnose: wenig differenziertes Adenocarcinom.

Nr. 1557

Klinische Diagnose: Corpuscarcinom
Histologische Diagnose: Carcinosum corporis adenomatosum et papillomatosum mit vereinzelt soliden Anteilen.

Hormonzufuhr: keine

Vorbehandlung mit Zytostatica oder Strahlen: keine

Nr. 1678

Klinische Diagnose: Corpus Neoplasma mit Pleuraerguß

Histologische Diagnose: Adenocarcinom des Corpus uteri mit überwiegend nekrotischem Material.

Bemerkung: Unser Material stammte aus einem Pleurapunktat mit röntgenologisch gesicherten Metastasen.

Hormonzufuhr: keine

Vorbehandlung mit Zytostatica oder Strahlen: keine

Nr. 1687

Klinische Diagnose: Corpuscarcinom

Histologische Diagnose: breit invasiv wachsendes Adenocarcinom

Hormonzufuhr: keine

Vorbehandlung mit Zytostatica oder Strahlen: keine

Nr. 1692

Klinische Diagnose: Corpuscarcinom

Histologische Diagnose: Adenocarcinom mit vielen nekrotischen Anteilen.

Hormonzufuhr: unbekannt

Vorbehandlung mit Zytostatica oder Strahlen: keine

Tabelle II

Präp.Nr.	Histolog.Diagnose	Alter in Jahren	Auswachs-zeit in Tagen	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen		Prozent der gefärbten Zellen	
				AP	SP	AP	SP
1525	wenig differenziertes Andenoca.	73	2	1493 / 507	-	25,35	-
1557	Ca.uteri adeno. papill. mit soliden Anteilen	57	3	1841 / 159	908 / 1092	7,65	54,6
1678	Pleurapunktat eines Adenoca. d. Corp. uteri	65	6	1999 / 1	970 / 1030	0,05	51,5
1687	Breit invasiv wachsendes Adenoca.	58	4	1034 / 966	2000 / 0	48,3	0,00
1692	Adenocarcinom	71	4	1819 / 181	1737 / 263	9,05	13,1

Abb. 2o a): Alkalische Phosphatase an in vitro gezüchtetem Adenocarcinom (hochdifferenziert).

Abb. 2o b): Zu Abb. 2o a) gehöriges histologisches Präparat.

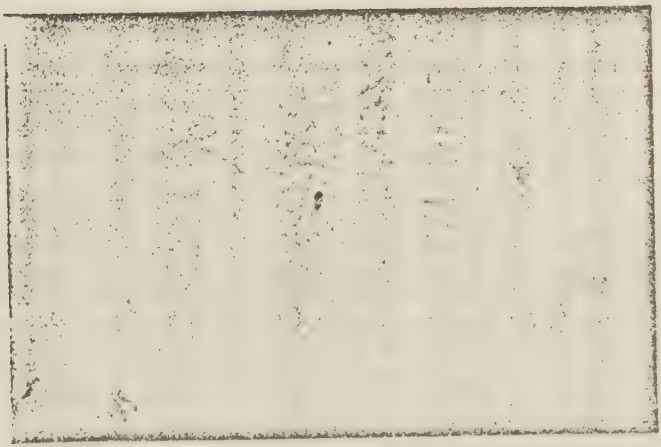

Abb. 21 a): Alkalische Phosphatase beim entdifferenziertem Endometriumcarcinom.

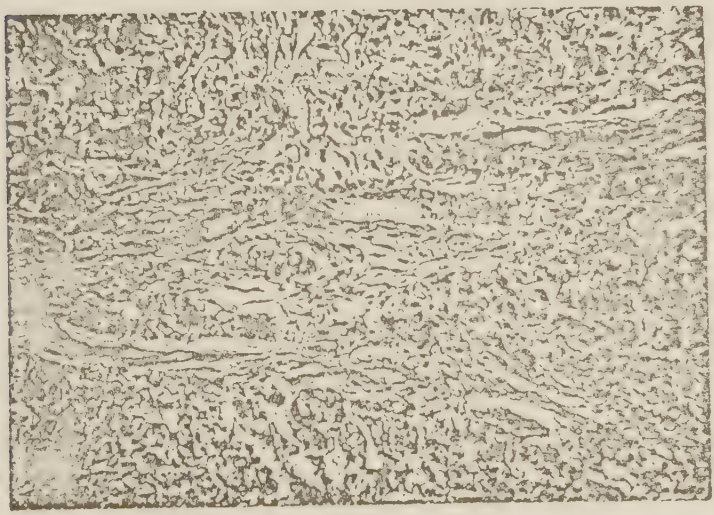

Abb. 21 b): Zu Abb. 21 a) gehöriges histologisches Präparat.

a) Alkalische Phosphatase

Die Alkalische Phosphatasereaktivität war bis auf das Pleurapunktat sehr stark vorhanden. Das Präparat 1687, ein hochdifferenziertes Adenocarcinom, zeigte eine besonders starke Aktivität. Dabei konnte man feststellen, daß die Reaktion durch das ganze Cytoplasma hindurch gleichmäßig stark vorhanden war. Neben den tumorähnlichen Zellen, die zum größten Teil die Alkalische Phosphatasereaktion zeigten, enthielten auch andere Zellen, die wir als Normalzellen bezeichnen wollen, dieses Ferment.

Bei einzelnen Zellen wurde die Alkalische Phosphatase auch außerhalb der Zellmembran vorgefunden. Interessant war dabei, daß sich die Alkalische Phosphatase nur an einem Pol der Zelle darstellte. Diese Bilder lassen die Deutung eines Sekretionsvorganges zu, der bei dieser Form des hochdifferenzierten Adenocarcinoms auftreten kann (s. auch D I 3 a).

Das Präparat 1557, bei dem es sich um ein mehr solides Carcinom handelte, wies eine deutlich geringere Aktivität der Alkalischen Phosphatase auf. Wie Präparat 1687, so enthielt auch Präparat 1557 sowohl tumorähnliche Zellen als auch Normalzellen, die Alkalische Phosphatase enthielten. Sekretorische Zellen,

wie bei dem hochdifferenzierten Adenocarcinom, wurden nicht vorgefunden.

b) Saure Phosphatase

Die Reaktionen mit der Sauren Phosphatase fallen durchweg sehr stark positiv aus. Dabei war im Gegensatz zu den Alkalischen Phosphatasen die Reaktion bei den Sauren Phosphatasen mehr auf tumorähnliche Zellen konzentriert.

Besonders schöne Bilder ergab dabei das Präparat 1678, bei dem es sich um ein Pleurapunktat handelte. Hierbei war der Zellrasen wesentlich aufgelockerter und man konnte die Einzelzellen sehr gut betrachten. Dabei fiel auf, daß die Saure Phosphatase nicht an der Zellmembran konzentriert vorlag, sondern daß sie sich auch im ganzen Cytoplasma verteilte und dabei den Kern frei ließ.

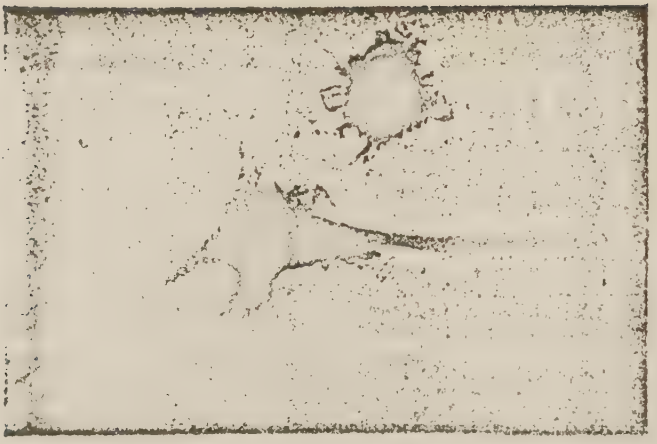

Abb. 22 a): Saure Phosphatase bei in vitro gezüchteten Metastasen eines Adenocarcinoms des Corpus uteri.

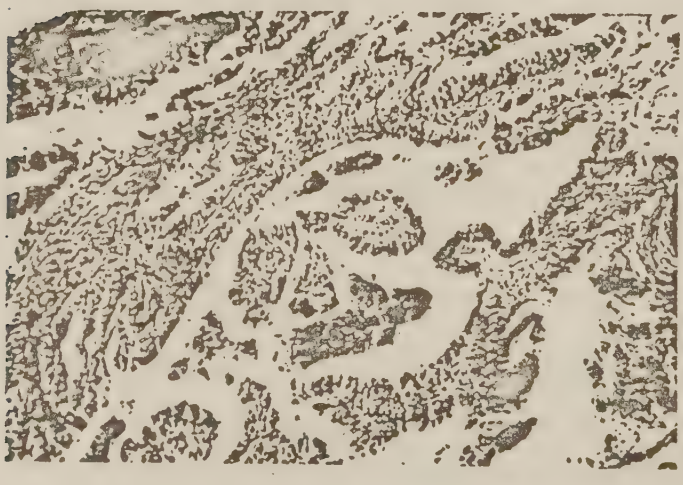

Abb. 22 b): Zu Abb. 24 a) gehöriges histologisches Präparat.

III. AUSWERTUNG UND DISKUSSION DER BEFUNDE

1. Vergleich der Reaktionsaktivität der Alkalischen und Sauren Phosphatasen bei Gewebsschnitten und Kulturverfahren des normalen menschlichen Endometriums.

a) Alkalische Phosphatase

Nach ATKINSON (3) und anderen gilt es als erwiesen, daß das Vorkommen der Alkalischen Phosphatase im menschlichen Endometrium vom Östrogenstimulus abhängig ist, das heißt mit einem Maximum der Alkalischen Phosphatase in der späten Proliferations- und frühen Sekretionsphase. Das Erscheinen dieses Ferments ist aber, abgesehen von Endothelien des Gefäßsystems, nur auf die Oberflächen- und Drüsenepithelien beschränkt, und hier wiederum auf deren lumenwärts gerichtete Seite. Man kann also eine genaue Lokalisation der Alkalischen Phosphatase an den Gewebsschnitten durchführen. Problematischer ist aber die Einteilung der Alkalischen Phosphatase positiven Zellen im Kulturverfahren (s. D I 3).

Bei unserer Darstellung der Alkalischen Phosphatase im Kulturverfahren erhielten wir ebenfalls eine unterschiedlich starke Reaktion, die abhängig von der

jeweiligen Zyklusphase war. Vergleicht man beide Kurven, die der Histologie und die des Kulturverfahrens (s. Abb. 23), so läßt sich eine Übereinstimmung der Alkalischen Phosphataseaktivitäten in den jeweiligen Zyklusphasen feststellen. Dies trifft vor allem für den Abfall von der frühen zur späten Sekretionsphase zu. Eine Diskrepanz ergibt sich aus dem Anstieg der Alkalischen Phosphatase nach der Menstruation in der ersten Zyklushälfte und für das Aktivitätsmaximum.

Bei unseren eigenen Versuchen steigt die Alkalische Phosphatase von der frühen zur späten Proliferationsphase an, um in der frühen Sekretionsphase ihr Maximum zu erreichen. Bei den Gewebsschnitten zeigt aber schon die frühe Proliferationsphase deutlich hohe Alkalische Phosphatasewerte an, um dann schon in der späten Proliferationsphase ihr Maximum zu erreichen.

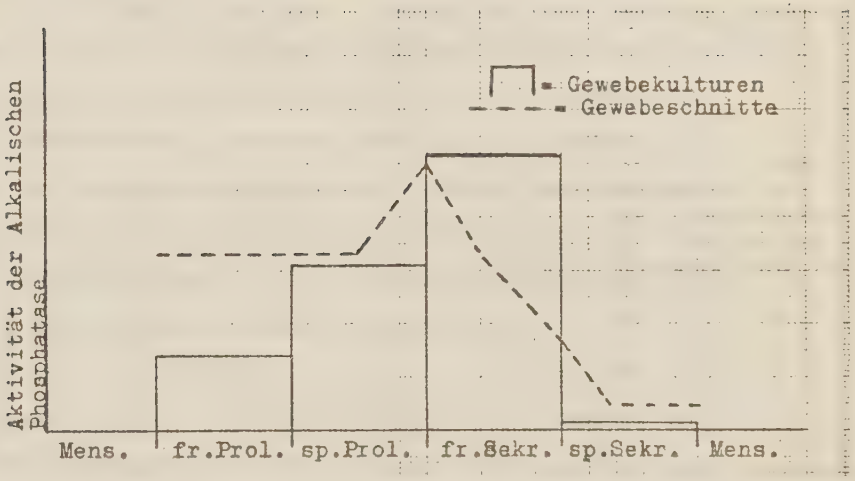

Abb. 23: Verlauf der Aktivitätskurven der Alkalischen Phosphatase im Kulturverfahren und in Gewebsschnitten. Dabei sind beide Kurven übereinander projiziert worden, ohne einen gemeinsamen Beziehungspunkt auf der Ordinate für beide Kurven zu haben.

Eine Erklärung für diese Diskrepanz haben wir nicht gefunden. Eine Abhängigkeit von der Auswachszeit besteht nicht. Eine mögliche Deutung wäre folgende: Bei den endometrialen Kulturen in der frühen Proliferationszeit fällt der Nachweis für die Alkalische Phosphatase deshalb so schwach aus, weil der zu dieser Zeit geringe Östrogenspiegel nicht ausreicht, um den unphysiologischen Vorgang der Explantation und der Züchtung zu kompensieren. In dieser Zyklusphase reagieren die Zellen Östrogen gegenüber empfindlich, so daß ein Entzug dieses

Hormons von einem oder mehreren Tagen die Alkalische Phosphatasereaktionen schwächer ausfallen läßt als es bei den Gewebsschnitten der Fall ist. Bei diesem letztgenannten Verfahren wird nach der Explantation das Endometrium sofort mit Nachweisreagentien behandelt, ohne daß ein längerer Östrogenentzug auftritt, wie bei den Kulturen. Im Prinzip ist so auch die Verschiebung des Aktivitätsmaximums der Alkalischen Phosphatase von der späten Proliferation bei Gewebsschnitten zur frühen Sekretion in den Kulturen zu verstehen. Vor der Explantation in der frühen Sekretionsphase unterlagen die Zellen im Organismus einem langen Östrogeneinfluß, so daß ein Östrogenentzug im Kulturverfahren nicht die Alkalische Phosphatasereaktion negativ beeinflußt. Die Progesteronausschüttung in dieser Phase hat auf die Kultur keinen Einfluß, da das Endometrium erst kurze Zeit unter dem Einfluß dieses Hormons gestanden hat und in der Kultur wiederum ein Hormonentzug über eine längere Zeit erfolgt ist. Somit liegt dem Aktivitätsgipfel in der frühen Sekretionsphase nicht eine Gestagenwirkung, sondern eigentlich eine Östrogenwirkung zu Grunde.

Zudem haben schon SCHMIDT MATTHIESEN und OBER (43, 47) darauf hingewiesen, daß ein eng umschriebener Aktivitätsgipfel nicht überbewertet werden soll.

b. Saure Phosphatase

Wie schon früher ausgeführt, soll man bei der Deutung der Sauren Phosphatasereaktion an Gewebsschnitten Zurückhaltung üben. Bei der Explantation und Kultivierung kommt noch ein weiterer Unsicherheitsfaktor hinzu (s. Methodenkritik). Trotzdem ergab sich eine Übereinstimmung aus unseren eigenen Versuchen verglichen mit denen von Gewebsschnitten.

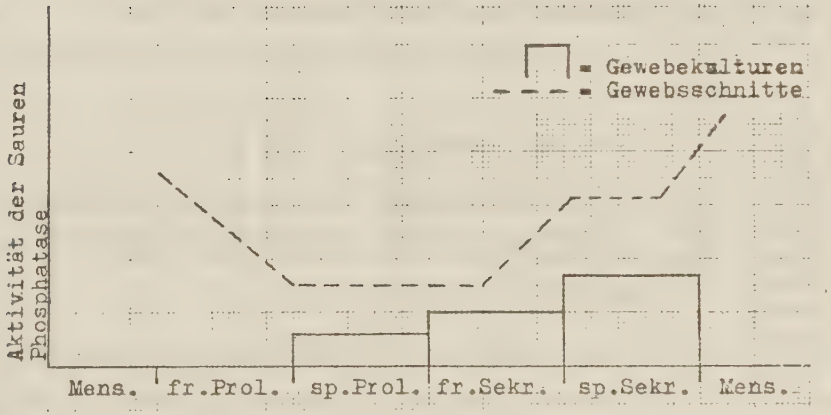

Abb. 24: Verlauf der Aktivitätskurven der Sauren Phosphatase im Kulturverfahren und in Gewebsschnitten. Dabei sind die beiden Kurven übereinander projiziert worden, ohne einen übereinstimmenden Beziehungspunkt auf der Ordinate für beide Kurven zu haben.

Die Saure Phosphatase nimmt im Laufe des Zyklus zu, um dann am Ende vor der Menstruation ihr Maximum zu erreichen. Ein Unterschied in beiden Kurven ergibt sich nur in der frühen Proliferationsphase. Während wir bei unseren eigenen Versuchen in dieser Zeit keine einzige Zelle vorgefunden haben, die Saure Phosphatase enthält, liegt bei den Gewebsschnitten schon eine feststellbare Saure Phosphatasereaktion vor.

2. Vergleich der Reaktionsaktivitäten der Alkalischen und Sauren Phosphatase bei Gewebsschnitten und Kulturverfahren des menschlichen Corpuscarcinoms.

a) Alkalische Phosphatase

Die in der Literatur vorkommende Beurteilung der Alkalischen Phosphatase an Gewebsschnitten des Endometriumcarcinoms ergibt:

1. Eine verminderte Reaktionsstärke verglichen mit der späten Proliferationsphase des normalen menschlichen Endometriums (8, 18, 32).
2. Die Reaktionsstärke der Alkalischen Phosphatase ist abhängig vom Differenzierungsgrad des Neoplasmas. Je ausgereifter die Tumorform ist, desto stärker fällt der Nachweis der Alkalischen Phosphatase aus (4, 8, 18, 28, 32, 34, 37).

Bei unseren eigenen Versuchen konnten wir die Ergebnisse von Punkt zwei bestätigen. Bei den hochdifferenzierten Adenocarcinomen (Präp.Nr. 1687 u. 1692) waren durchschnittlich 28,67 % aller Zellen gefärbt, während bei den weniger differenzierten Formen (1525 u. 1557 sowie 1678) durchschnittlich nur 11,o5 % aller Zellen Alkalische Phosphatase enthielten.

Zu Punkt 1 konnten wir bei unseren eigenen Versuchen keine Übereinstimmung erzielen, sondern vielmehr ein entgegengesetztes Verhalten aufdecken. Während bei den Gewebsschnitten die Alkalische Phosphatase selbst bei dem hochdifferenzierten Carcinom des Endometriums wesentlich geringer ist als zur Zeit des Aktivitätsmaximums dieses Ferments in der späten Proliferationsphase, erzielten wir eine deutliche Steigerung der Alkalischen Phosphatase bei durchschnittlich allen Carcinomen des Endometriums in der Kultur.

Carcinome in der Kultur	= 17,68 %
Endometriumkulturen in der frühen Sekretion	= 1o,17 %.

Die Kritik von STOLL (49), daß bei Arbeiten mit Zellhomogenaten die vermehrte Reaktion der Alkalischen Phosphatase auf das Vorhandensein von Kapillarepithelien zurückzuführen ist, ist hier fehl am Platz. Auch

im normalen Endometrium - und hier wieder besonders zur Zeit der frühen Sekretion - ist das Kapillarsystem deutlich ausgebildet (46) und zeigt somit auch in unserem Kulturverfahren eine positive Alkalische Phosphatasereaktion. Eine gewisse Möglichkeit der Erklärung dieses Unterschieds lassen die Arbeiten von MYRBÄCK (4o) und SIEBERT (48) wie folgt zu: Da das Carcinomgewebe eine größere Wachstumstendenz besitzt als das normale Gewebe, ist für seine Entfaltung eine gute Vascularisation Voraussetzung. Diese optimale Ernährung fällt bei der Explantation aus. Es muß nun in der Kultur aus dieser nicht maximalen physiologischen Nährflüssigkeit seinen Nährbedarf decken. Dazu sind als Grundsubstanz Glucose und Aminosäuren notwendig, die zur Überführung aus dem Extrazellulärraum in den intrazellulären Raum phosphorylisiert werden. Die Alkalische Phosphatase wirkt dabei als Ferment. Dieses Verhalten der Alkalischen Phosphatase gilt nach Meinung von SIEBERT aber nur für in vitro gezüchtete Zellen. Es wäre nun denkbar, daß die Carcinomzellen, die eine erhöhte Wachstumsrate besitzen, auch in der Kultur eine erhöhte Tätigkeit der Alkalischen Phosphatase aufweisen und somit auch eine größere Transphosphorylisierungsrate.

Eine ausreichende Erklärung für das entgegengesetzte Verhalten der Alkalischen Phosphatase im Carcinomgewebe bei Gewebsschnitten und in der Kultur kann aber nicht gegeben werden. Diese Diskrepanz bleibt somit als Faktum unserer Untersuchungen stehen.

b) Saure Phosphatase

Die bei der Beurteilung dieses Fermentnachweises auftretenden Schwierigkeiten sind unter dem Kapitel Methodenkritik aufgeführt.

In ihren Untersuchungen geben LEMON, GROPP und Mac KAY (31, 37, 23) an, daß bei Carcinomen allgemein und auch beim Endometriumcarcinom die Saure Phosphatase im Cytoplasma dieser malignen Zellen vermehrt auftritt.

Auch bei unseren eigenen Untersuchungen an in vitro gezüchteten Corpuscarcinomen konnten wir eine starke Reaktion dieses Ferments nachweisen. So zeigten im Durchschnitt 29,9 % aller ausgezählten Zellen der vier Carcinome eine positive Saure Phosphatasereaktion. Eine solche Reaktionsstärke erhielten wir bei keiner unserer anderen durchgeführten Untersuchungen.

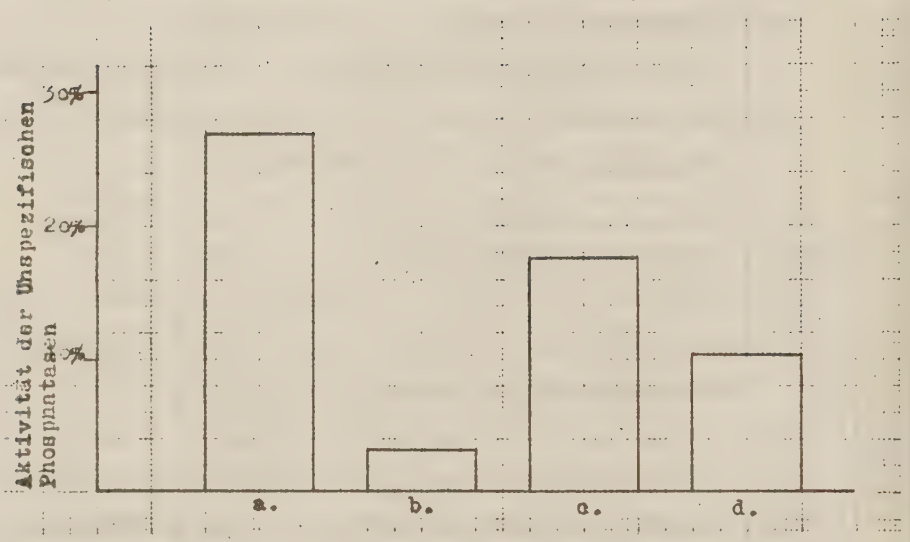

Abb. 25: Aktivitäten der unspezifischen Phosphatasen.
a) Saure Phosphatase beim Adenocarcinom
b) Saure Phosphatase zur Zeit der späten Sekretion
c) Alkalische Phosphatase beim Adenocarcinom
d) Alkalische Phosphatase zur Zeit der frühen Sekretion

Auf Grund unserer Untersuchungen von in vitro gezüchteten Zellen ergab sich, verglichen mit den Gewebschnitten die Übereinstimmung, daß die Saure Phosphatase bei den Carcinomen des Endometriums vermehrt auftritt. Dabei beziehen wir das "vermehrt" auf die späte Sekretionsphase, in der die Saure Phosphatase im normalen Zyklus ihr Maximum erreicht. Mac KAY (37) schreibt nur allgemein von vermehrt, ohne einen Beziehungspunkt anzugeben.

E. OVAR

I. Normales Ovar

1. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Gewebsschnitten des Ovars (Literaturangaben)

Untersucher, die mit Ovarien verschiedener Tierspezies und menschlichen Ovarien experimentierten, erhielten beim Nachweis der Alkalischen und Sauren Phosphatase unterschiedliche Ergebnisse. Enzymhistochemisch untersucht wurden von ihnen ausschließlich Gewebsverbände.

a) Alkalische Phosphatase

RUTENBURG und SELIGMAN (45) untersuchten das Ovar von der Ratte. Ihre Ergebnisse:
Alkalische Phosphatase war im sekundären und ausgereiften Follikel gering vorhanden. Die Corpora lutea reagierten am intensivsten. Das Interstitium enthielt nur geringe Mengen von diesem Ferment. KABAT und FURTH (29) fanden im menschlichen Ovar post partum eine starke Reaktion von Alkalischer Phosphatase im Corpus luteum. Der Primärfollikel und das Corpus albicans waren negativ, während die Thecazellen eine mäßige Reaktion zeigten.

Handbuch der Histochemie (52):
Die Alkalische Phosphatase wurde bei vielen Tierspezies und beim Menschen im Corpus luteum, in den Graafschen Follikeln und im peripheren interstitiellen Gewebe gefunden. Bei hypophysektomierten Ratten sank die Aktivität der Alkalischen Phosphatase in den Corpora lutea etwas, in den Follikeln ganz. Nach Substitution mit einem Extrakt der Hypophyse stieg die Aktivität der Alkalischen Phosphatase in den Ovarien bis zur normalen Stärke wieder an. Eine geringe Reaktion der Alkalischen Phosphatase wurde auch um die Corpora albicantia herum gefunden.

b) Saure Phosphatase

GOMORI (22) fand eine gänzlich negative Aktivität für Saure Phosphatase im Ovar, mit Ausnahme einer geringen Reaktion im Corpus.

Handbuch der Histochemie (52):
Saure Phosphataseaktivität wurde in denselben Zellen gefunden, in denen auch die Alkalische Phosphatase registriert wurde. Wie die Alkalische, so war auch die Saure Phosphatase zu allen Zykluszeiten und in allen Gewebsformationen gering. Zu Beginn der Lactation wurde für die Alkalische und Saure Phosphatase im Ovar eine höhere Aktivität gefunden, die dann aber sehr schnell wieder abnahm.

2. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten Ovarien

Untersucht wurden 9 Ovarien von Frauen im Alter von 35 bis 63 Jahren.

Präparat Nr. 1558
Klinische Diagnose: Hochdifferenziertes Corpuscarcinom.
Histologischer Befund des Ovars: normales Ovar
Alkalische Phosphatase: keine Aktivität
Saure Phosphatase: 3,4 % von 2 ooo ausgezählten Zellen waren gefärbt.

Präparat Nr. 16o1
Klinische Diagnose: Portioneoplasma I
Histologische Diagnose: Das Ovar war polycystisch verändert. Es fand sich ein Corpus luteum in Blüte.
Alkalische Phosphatase: keine Aktivität
Saure Phosphatase: keine Aktivität der 2 ooo ausgezählten Zellen.

Präparat Nr. 16o3
Klinische Diagnose: Uterus myomatosus
Histologischer Befund des Ovars: Cystovar
Alkalische Phosphatase: 1,4 % der 2 ooo Zellen waren gefärbt.
Saure Phosphatase: 8,o2 % waren gefärbt

Präparat Nr. 16o4
Klinische Diagnose: Portiocarcinom der Gruppe I
Histologische Diagnose: normales Ovar
Alkalische Phosphatase: o,45 % bei 2 ooo ausgezählten Zellen waren gefärbt.
Saure Phosphatase: o,o5 % waren gefärbt

Präparat Nr. 16o9
Klinische Diagnose: Uterus myomatosus
Histologische Diagnose: Ovar mit Thecacyste, normales Stroma, Corpora albicantia und an einer umschriebenen Stelle ein Herd von Ovarialendometriose.
Alkalische Phosphatase: 3,1 % waren gefärbt
Saure Phosphatase: 6,o % der 2 ooo ausgezählten Zellen enthielten dieses Ferment.

Präparat Nr. 16o5
Klinische Diagnose: Portiocarcinom
Histologischer Befund des Ovars: normales Ovar
Alkalische Phosphatase: o,45 % waren gefärbt
Saure Phosphatase: o,75 % der 2 ooo Zellen waren gefärbt.

Präparat Nr. 1694
Klinische Diagnose: Uterus myomatosus
Histologische Diagnose: Ovar mit normalem Stroma, in der Rinde einige Cysten und Follikel sowie eine Corpus luteum Cyste.
Alkalische Phosphatase: 2,5 % waren gefärbt
Saure Phosphatase: o,15 % waren gefärbt

Präparat Nr. 1695
Klinische Diagnose: Uterus myomatosus
Histologische Diagnose: normales Ovar mit einer Corpus luteum Cyste.
Alkalische Phosphatase: o,oo %
Saure Phosphatase: o,oo %

Präparat Nr. 1696
Klinische Diagnose: Uterus myomatosus
Histologische Diagnose: polycystisch verändertes Ovar mit einer Corpus luteum Cyste.
Alkalische Phosphatase: o,oo %
Saure Phosphatase: o,oo %

Tabelle III

Präp.Nr.	Histolog.Diagnose	Alter in Jahren	Auswachs-zeit in Tagen	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen AP	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen SP	Prozent der gefärbten Zellen AP	Prozent der gefärbten Zellen SP
1558	normales Ovar	56	3	2000 / 0	1928 / 72	0,00	3,4
1601	polycystisches Ovar	41	4	2000 / 0	2000 / 0	0,00	0,00
1603	Cystovar	40	2	1972 / 28	1835 / 165	1,4	8,02
1604	normales Ovar	42	3	1991 / 9	1999 / 1	0,45	0,05
1605	normales Ovar	63	3	1991 / 9	1985 / 15	0,45	0,75
1609	Endometriose des Ovars	44	6	1938 / 62	1880 / 120	3,1	6,0
1694	Ovar mit Corpus luteumcyste	44	3	1950 / 50	1997 / 3	2,5	0,15
1995	Ovar mit Corpus albicans	35	4	2000 / 0	2000 / 0	0,00	0,00
1696	Ovar mit Corpus luteumcyste	48	3	2000 / 0	2000 / 0	0,00	0,00

Abb. 26 a): Zu Präparat Nr. 1601 gehöriges Bild. Der Nachweis von Alkalischer Phosphatase war negativ.

Abb. 26 b): Zu Präparat 1601 gehöriges Bild. Der Nachweis von Saurer Phosphatase war negativ.

Abb. 26 c): Zu Präparat 16o1 gehöriges Bild.
Histologischer Gewebsschnitt.

II. Carcinome des Ovars und deren Metastasen

1. Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase an Gewebsschnitten des Ovarialcarcinoms (Literaturangaben)

GOMORI (22) fand allgemein, daß Metastasen von Alkalischer Phosphatase positiven Tumoren ebenfalls eine Alkalische Phosphatasereaktion zeigten. Nekrotische Anteile von Tumoren stellten sich positiver dar als die malignen Tumoranteile in den Wachstumszonen. Er fand jedoch, daß Ovarialcarcinome in bezug auf die Alkalische Phosphatase gänzlich negativ sind. Insgesamt hatte er drei maligne Ovarialtumoren untersucht.

OBER (42) machte bei seinen Untersuchungen die Entdeckung, daß Ovarialcarcinome auch Alkalische Phosphatase enthalten können. Er stellte fest, daß gänzlich entdifferenzierte Tumoren die geringste Phosphataseaktivität zeigten, hochdifferenzierte jedoch eine positive Reaktion haben.

Bei papillären Ovarialtumoren, denen bei üblicher histologischer Beurteilung gleiche Dignität zugesprochen wurde, fand sich sowohl eine fehlende

Aktivität der Alkalischen Phosphatase wie auch der Phosphoamidase. Die Alkalische Phosphatase zeigte unter Bestrahlung keinen Reaktionsunterschied.

2. Eigene Versuche zur Darstellung der Alkalischen und Sauren Phosphatase an in vitro gezüchteten Ovarialcarcinomen

Untersucht wurden zwölf Ovarialcarcinome verschiedener Reifegrade. Sieben Präparate stammten von Ascitespunktaten und eines von einem Pleurapunktat bei vorliegenden Ovarialcarcinomen.

Präparat Nr. 1531
Klinische Diagnose: Ovarialcarcinom
Histologische Diagnose: entdifferenziertes Adenocarcinom des Ovars.
Material: Ascitespunktat
Vorbehandlung: sechsmalige Zytostaticaapplikation.
Alkalische Phosphatase: o,7 % von 2 ooo ausgezählten Zellen waren positiv.
Saure Phosphatase: o,1 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 1546

Erneutes Ascitespunktat der selben Patientin.

Alkalische Phosphatase: o,o5 % der Zellen waren gefärbt.

Saure Phosphatase: o,oo %

Präparat Nr. 1556

Klinische Diagnose: Ovarialcarcinom

Histologische Diagnose: Adenocystoma ovarii papillomatosum carcinomatosum partim solidum.

Material: Ascitespunktat

Alkalische Phosphatase: 4,85 % der Zellen waren gefärbt

Saure Phosphatase: 69,55 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 1561

Tumorgewebe der selben Patientin

Alkalische Phosphatase: 4,1 % der Zellen waren gefärbt

Saure Phosphatase: 7,4 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 1563

Klinische Diagnose: Pleurametastase

Histologische Diagnose: Pleurametastase bei vorliegendem Ovarialcarcinom (entdifferenziert).

Alkalische Phosphatase: 17,4 % der Zellen waren positiv

Saure Phosphatase: o,o %

Präparat Nr. 161o
Klinische Diagnose: Ovarialtumor mit Ascites
Histologische Diagnose: Überwiegend adenomatös, zum Teil auch solide wuchernder Tumor des Ovars.
Material: Ascitespunktat
Alkalische Phosphatase: o,6 % von 2 ooo ausgezählten Zellen waren gefärbt.

Präparat Nr. 163o
Klinische Diagnose: Ovarialtumor
Histologische Diagnose: Überwiegend entdifferenziertes, teilweise papillomatös wachsendes Ovarialcarcinom ohne Bindegewebsanteile.
Alkalische Phosphatase: o,o5 %
Saure Phosphatase: o,oo %

Präparat Nr. 1587
Klinische Diagnose: Ovarialtumor
Histologische Diagnose: Carcinoma adenomatosum papillomatosum pseudomucinosum ovarii.
Alkalische Phosphatase: o,55 % der Zellen waren gefärbt
Saure Phosphatase: 61,1 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 158o
Klinische Diagnose: Ovarialtumor mit Ascites
Histologische Diagnose: adenomatöses, papillomatöses, teilweise squammöses, teilweise solides und entdifferenziertes Carcinom.

Material: Ascitespunktat
Alkalische Phosphatase: o,7 % der Zellen waren gefärbt
Saure Phosphatase: 76,65 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 1673
Klinische Diagnose: Ovarialtumor
Histologische Diagnose: Adenoneoplasma ovarii mit vielen Cysten.
Alkalische Phosphatase: o,oo %
Saure Phosphatase: 1,45 % der Zellen waren gefärbt

Präparat Nr. 1693
Klinische Diagnose: Ovarialtumor
Histologische Diagnose: adenomatöses, papillomatöses, teilweise entdifferenziertes Ovarialcarcinom.
Alkalische Phosphatase: o,oo %
Saure Phosphatase: 52,6 % der 2 ooo ausgezählten Zellen waren positiv

Präparat Nr. 1697
Klinische Diagnose: Ovarialtumor
Histologische Diagnose: adenomatöses, teilweise auch solides, aber überwiegend entdifferenziertes Ovarialcarcinom mit wenig Bindegewebe.
Alkalische Phosphatase: o,65 % der Zellen waren gefärbt
Saure Phosphatase: 1,6 % der 2 ooo ausgezählten Zellen waren gefärbt.

Tabelle IV

Präp.Nr.	Histolog.Diagnose	Alter in Jahren	Auswachszeit in Tagen	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen AP	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen SP	Prozent der gefärbten Zellen AP	Prozent der gefärbten Zellen SP
1531	Ascites eines entdiff. Adenoca.	56	1o	1986 / 14	1998 / 2	o,7	o,1
1546	Ascites eines entdiff. Adenoca.	56	7	1999 / 1	2ooo / o	o,o5	o,oo
1556	Ascites eines Cystadenoca. ovarii	71	5	19o3 / 97	6o9 / 1391	4,85	69,55
1561	Cystadenoca. d. Ovars	71	5	1918 / 82	1852 / 148	4,1	7,4
1563	Pleurapunktat eines entdiff. Ovarialca.	56	5	1652 / 348	2ooo / o	17,4	o,oo
158o	Ascites eines Ovarialca. mit allen Reifegraden	47	7	1986 / 14	467 / 1533	o,7	76,65
1587	adenomatöses Ovarialca.	59	1	1989 / 11	778 / 1222	o,55	61,1
161o	Ascites eines Adeno. soliden Ovarialca.	49	4	1988 / 12	1975 / 25	o,6	1,25
163o	teilweise entdiff. u. papillär. Ovarialca.	36	4	1999 / 1	2ooo / o	o,o5	o,oo

Fortsetzung Tabelle IV

Präp.Nr.	Histolog.Diagnose	Alter in Jahren	Auswachs-zeit in Tagen	ungefärbte Zellen / gefärbte Zellen		Prozent der gefärbten Zellen	
				AP	SP	AP	SP
1673	cystisches Ovarialca.	49	7	2000 / 0	1971 / 29	0,00	1,45
1693	teilweise entdiff. u. papillär. Ovarialca.	62	2	2000 / 0	948 / 1052	0,00	52,6
1697	überwiegend entdiff. Ovarialca.	46	4	1987 / 13	1968 / 32	0,65	1,6

Wie OBER (42) schon feststellte, hängt die Aktivität der Alkalischen Phosphatase von dem Reifegrad des Tumors ab. Auch bei unseren eigenen Untersuchungen konnten wir diesen Befund bestätigen, jedoch nicht für die alkalische Phosphatase.

Entdifferenziertes Carcinom: AP 3,14 % SP o,47 %
Hochdifferenziertes Carcinom: AP 1,93 % SP 44,46 %

Abb. 27 a): Saure Phosphatase: Nachweis bei einem Ascitespunktat bei vorliegendem Ovarialcarcinom.

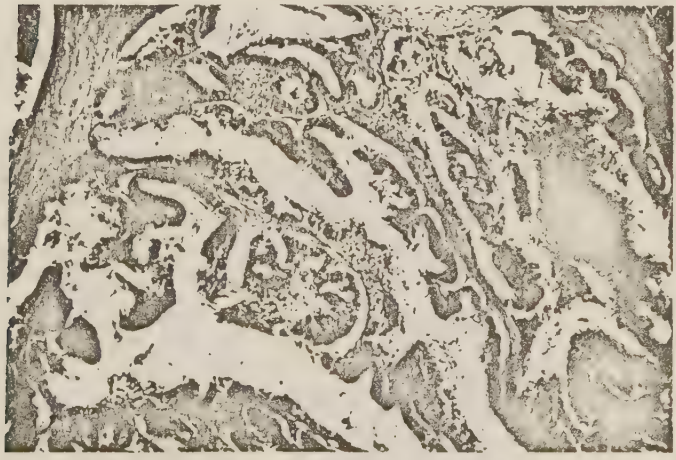

Abb. 27 b): Zu Abb. 27 a) gehöriges Präparat eines Gewebsschnittes des Ovarialcarcinoms.

Abb. 28 a): Saure Phosphatase: Nachweis beim Ovarialcarcinom (Präp. Nr. 1587).

Abb. 28 b): Zu Abb. 28 a) gehöriges histologisches Bild eines Gewebsschnittes des Ovarialcarcinoms.

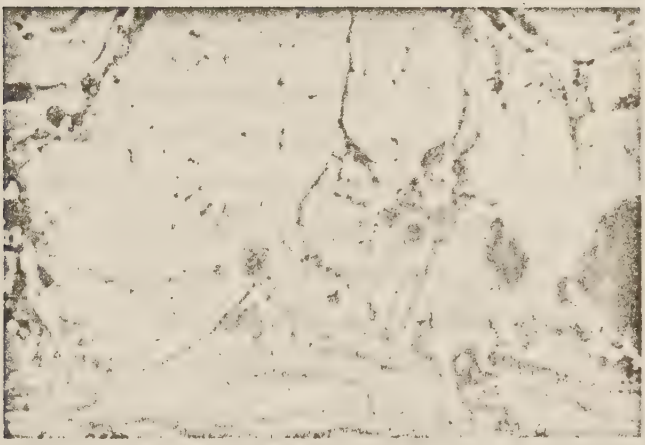

Abb. 29 a): Saure Phosphatase: Nachweis beim Ovarialcarcinom (Präp. Nr. 1693).

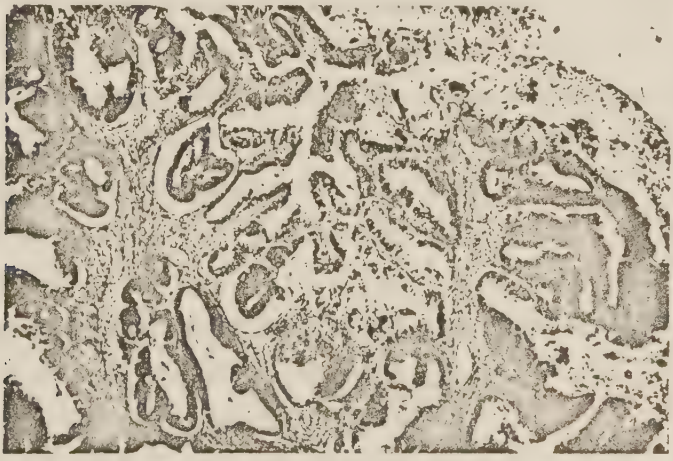

Abb. 29 b): Zu Abb. 29 a) gehöriges histologisches Bild eines Gewebsschnittes des Ovarialcarcinoms.

III. Auswertung

1. Normales Ovar

Grundsätzlich ist zu sagen, daß bisher relativ wenig Literaturangaben über das Vorkommen dieser Fermente in Gewebsschnitten des menschlichen Ovars vorliegen.

Zuerst einmal die Ausführungen aus dem Handbuch der Histochemie (52):

Alkalische Phosphatase wurde bei vielen Tierarten und beim Menschen im Corpus luteum, im Graafschen Follikel und im interstitiellen Gewebe gefunden.

Bei hypophysektomierten Ratten sank die Aktivität der Alkalischen Phosphatase in den Follikeln ganz, in den Corpora lutea wurde die Aktivität nur etwas geringer. Nach Substitution war wieder ein Anstieg zu beobachten.

Die Zellen der Corpora albicantia wiesen eine geringe Aktivität der Alkalischen Phosphatase auf.

RUTENBURG und SELIGMAN fanden (45) für die Saure Phosphatase im Keimepithel des Ovars der Ratte nur eine geringe Reaktion, im jugendlichen Cytoplasma der Follikelzellen eine mäßige Aktivität und im sekundären und ausgereiften Follikel die geringste Aktivität. Die Corpora lutea reagierten am intensivsten, während das Interstitium nur eine geringe Aktivität für Saure Phosphatase zeigte.

GOMORI (22) stellt anhand seiner Untersuchungen fest, daß im weiblichen Ovar der Nachweis der Alkalischen Phosphatase gänzlich negativ ausfiel mit Ausnahme einer geringen Reaktion im Corpus luteum.

KABAT und FURTH (29) fanden im Ovar post partum viel Alkalische Phosphatase im Corpus luteum, in den Thecazellen mäßig, im Primärfollikel und Corpus albicans keine. Junge, proliferierende Zellen enthielten mehr Phosphatase als alte, untergehende Zellen.

Vergleicht man die obengenannten Angaben mit den Ergebnissen der von uns in vitro gezüchteten normalen menschlichen Ovarien, dann ergibt sich eine Übereinstimmung. Bei unseren eigenen Versuchen zeigten nur wenige Zellen einen positiven Phosphatasenachweis, wobei die Saure Phosphatase durchschnittlich etwas höhere Prozentzahlen ergibt:
Alkalische Phosphatase: o,87 %
Saure Phosphatase: 2,o9 %
Durchschnittswerte aller Präparate von normalen Ovarien.

2. Ovarialcarcinome

Auch in bezug auf das Vorkommen der Alkalischen und Sauren Phosphatase im Ovarialcarcinom gibt es in der Literatur nur wenig Angaben.

GOMORI (22) fand bei Ovarialcarcinomen keine Alkalische Phosphatase.
ATKINSON (4) beschrieb, daß bei Carcinomen und Hyperplasien des Ovars die unspezifischen Phosphatase allein auf die Epithelgewebe beschränkt waren. In den Carcinomgeweben war die Aktivität um so geringer, je entdifferenzierter der Tumor war.

Soweit diese spärlichen Literaturangaben einen Vergleich mit unseren eigenen Versuchen zulassen, besteht hier keine bzw. nur teilweise eine Übereinstimmung mit unseren Untersuchungen. Die Literaturangaben über die unspezifischen Phosphatasen bei Gewebsschnitten geben keine quantitativen Aussagen. Lediglich qualitative Angaben sind zu finden in welchen Gewebearten des Ovars die Enzyme vorkommen. Bei unseren eigenen Versuchen an in vitro gezüchteten Ovarien ist eine Zuordnung der Einzelzelle zu bestimmten Gewebsorten des Ovars nicht möglich. Jedoch können wir durch die Auszählung der Einzelzellen zumindest eine semiquantitative Aussage machen.

Die Prozente für Alkalische Phosphatase waren im allgemeinen bei den in vitro gezüchteten Zellen von Ovarialcarcinomen sehr niedrig. Durchschnittswert aller Präparate: 2,47 %. Die Aktivität für Saure Phosphatase war höher als diejenige für die Alkalische Phosphatase. Besonders hoch war die Aktivität der Sauren Phosphatase bei histologisch hochdifferenzierten Tumoren.
Saure Phosphatase bei

a) entdifferenzierten Carcinomen: o,47 %
b) hochdifferenzierten Carcinomen: 44,46 %

Besonders auffallend war, daß bei vier Tumoren die Aktivität für Saure Phosphatase über 5o % der ausgezählten Zellen ausmachte. Für diesen Befund ist in der Literatur nichts Entsprechendes vorhanden, um einen Vergleich anstellen zu können.

Interessant war die Beobachtung, daß die Kulturen von Ascitespunktaten sich hinsichtlich ihrer Aktivität für Saure und Alkalische Phosphatase annähernd so verhielten wie der Primärtumor.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Mit der Azokopplungsmethode wurde an explantierten und in vitro gezüchteten Zellen des menschlichen Endometriums, Ovars, Ovarialcarcinoms und an Carcinomen des Corpus uteri der Nachweis für das Vorhandensein von Alkalischer und Saurer Phosphatase erbracht.

In bezug auf die Fragestellung (s. Einleitung) unter der wir die Untersuchungen durchgeführt haben, können wir folgende Aussagen machen:

Ad 1) Die Alkalische und Saure Phosphatase verhalten sich an in vitro gezüchteten Zellen des Endometriums und des Ovars ebenso wie bei den Gewebsschnitten.

a) Endometrium

Die Saure Phosphatase nimmt während des Zyklus zu, um in der späten Sekretionsphase ihr Maximum zu erreichen. Die Alkalische Phosphatase steigt während des Zyklus, um zur Zeit der Ovulation ihren Höhepunkt zu erreichen und dann gegen Ende des Zyklus wieder abzufallen.

b) Ovar

Die Alkalische Phosphatase zeigt bei den in vitro gezüchteten Zellen ebenso wie bei den Gewebsschnitten eine geringe Aktivität. Die Saure Phosphatase zeigt

ebenfalls für beide Verfahren - Gewebsschnitte und in vitro gezüchteten Homogenaten - nur eine geringe Aktivität. Verglichen mit der Alkalischen Phosphatase ergab sich für die Saure Phosphatase jedoch eine höhere Prozentzahl.

Ad 2)

a) Endometriumcarcinome

Die Saure Phosphatase bei in vitro gezüchteten Carcinomen des Corpus uteri stimmt mit dem in der Literatur aufgezeigten Verhalten dieses Enzyms in Gewebsschnitten überein das heißt, sie tritt vermehrt auf. Für die Alkalische Phosphatase konnten wir keine Übereinstimmung mit der Literatur erbringen. Bei der Enzymhistochemie mit Gewebsschnitten ist die Alkalische Phosphatase zwar in den Carcinomzellen vorhanden, aber geringer als zur Zeit ihres größten Aktivitätsgipfels in der späten Proliferationsphase. An in vitro gezüchteten Zellen liegt ein entgegengesetztes Verhalten vor, das heißt, die Alkalische Phosphatase ist in den Carcinomzellen der Kulturen stärker ausgeprägt als zur Zeit ihres Maximums in der frühen Sekretionsphase.

b) Ovarialcarcinome

Verglichen mit den spärlichen Literaturangaben besteht hier nur teilweise eine Übereinstimmung mit unseren Untersuchungen.

Die Alkalische Phosphatase war in den in vitro gezüchteten Ovarialcarcinomen nur gering vorhanden. Die Literatur gibt für die Gewebsschnitte keine quantitativen Angaben. Die Aktivität für die Saure Phosphatase lag in den in vitro gezüchteten Ovarialcarcinomen höher. Besonders bei histologisch hochdifferenzierten Carcinomen bestand ein deutlicher Phosphatasezuwachs, wie er auch in den Gewebsschnitten vorkommt.

Insgesamt gesehen ergaben unsere Untersuchungen einen Hinweis dafür, daß auch nach Herauslösen der Zellen aus dem Gewebsverband und anschließender Explantation in vitro vergleichbare Verhältnisse wie im Herkunftsgewebe, bezogen auf Alkalische und Saure Phosphatase, herrschen.

G. SCHRIFTTUM

1. ARNOLD, M. : Histochemie
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York S. 8o - 98 (1968)

2. ARZAC, J.P., BLANCHET, E. : Alkaline phosphatase and glycogen in human endometrium.
J.clin.Endocr. 8, 315 - 324 (1948)

3. ATKINSON, W.B. : Studies on the effect of steroid sex hormons on alkaline phosphatase in the endometrium.
Menstruation and its disorders.
Engle E.T.a. Thomas Ch. Springfield 3 - 14 (195o)

4. ATKINSON, W.B. : The histochemistry of normal and abnormal growth in the human endometrium.
Tex.Rep.Biol.and Med. 13, 6o3 - 61o (1955)

5. ATKINSON, W.B., ELFTMAN, H. : Effect of steroid sex hormons on distribution of alkaline phosphatase in uterus of mouse.
Proc.Soc.exp.Biol. (NY) 62, 148 - 15o (1946)

6. ATKINSON, W.B., ELFTMAN, H. : Mobilization of alkaline phosphatase in the uterus of the mouse by estrogen.
Endocrinology 4o, 3o - 37 (1947)

7. ATKINSON, W.B., ENGLE, E.T. : Studies on the endometrial alkaline phosphatase during the human menstrual cycle and the hormon treated monkey.
Endocrinology 4o, 327 - 333 (1947)

8. ATKINSON, W.B., GUSBERG, S.B. : Histochemical studies of abnormal growth of human endometrium. 1. alkaline phosphatase in hyperplasia and adenocarcinoma. Cancer 1, 248 - 251 (1948)

9. AXELORD, B. : A new mode of enzymatic phosphate transfer. J. Biol. Chem. 172, 1 - 13 (1948)

1o. BALDWIN : Biochemie. Einführung in die Dynamik. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, S. 83 - 84

11. BONTKE : Histochémie de l'endomètre prémenstruel et gravide. Les fonctions de nidiation utérine et leurs troubles, 269 - 276 (196o)

12. BURZACO, J.M. : Ein Beitrag zur funktionellen Pathologie des Endometriums unter Anwendung histochemischer Methoden. Zbl.Gyn. 78, 1986 - 1995 (1956)

13. DEANE, H., BARNETT, R.J., SELIGMAN, A.M. : Handbuch d. Histochemie VII/1 Fischer Verlag Stuttgart, S. 119 - 139 (196o)

14. DEMPSEY, E.W., WISLOCKI, G.B. : Histochemical reactions of the endometrium in pregnancy. Ann.J.Anat. 77, 365 - 4o3 (1945)

15. DEMPSEY, E.W., WISLOCKI, G.B. : Histochemical contributions to physiology. Physiological Rev. 26, 1 - 25 (1946)

16. DULBECO, R., VOGT, M.J. : Plaque formation and insolation of pure lines with Poliomyelitis viruses. J.of Exp.Med. 99, 167 - 182 (1954)

17. FORAKER, A.G., DENHAM, S.W. : Squamous cell carcinoma of the uterine cervix. A histochemical review. Amer.J.Obstet.Gynec. 74, 13 - 24 (1957)

18. GALBIS, M. : Histochemistry of endometrial carcinoma. Acta cytologica 2, 493 - 494 (1958)

19. GOLDBERG, B., JONES, H.W. jr. : Acid phosphatase in human female genital tract, a histochemical and biochemical study. Proc.Soc.exp.Biol. 83, 45 - 5o (1953)

2o. GOLDBERG, B., JONES, H.W. jr. : Some characteristics of the acid phosphatase of the human endometrium. Obstet. and Gynec. 4, 426 - 43o (1954)

21. GOLDBERG, B., JONES, H.W. jr. : Acid phosphatase of the endometrium. Histochemical demonstration in various normal and pathologic conditions. Obstet. and Gynec. 7, 542 - 546 (1956)

22. GOMORI, G. : Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and under pathological conditions. Arch.Path. 32, 189 - 199 (1941)

23. GROPP, A., BONTKE, E., HUPE, K. : Fermenthistochemische Untersuchung an Fibroplasten und Sarkomgewebe in vitro. Z. Krebsforschung 62, 17o - 187 (1957)

24. GROPP, A., HUPE, K. : Nachweis von Enzymen an in vitro gezüchteten Makrophagen und epitheloiden Zellen. Virchow Arch.Path.Anat. Physiol. 331, 641 - 652 (1958)

25. GROPP, A., HELLWEG, H.R. : Cytologische und enzymhistochemische Untersuchungen über die Zelloberfläche an in vitro gezüchteten Zellen, Z. Zellforschung mikrosk. Anat. 5o, 315 - 331 (1959)

26. HALL, J.E. : Alkaline phosphatase in human endometrium. Amer.J.Obstet.Gynec. 6o, 212 - 216 (195o)

27. HUGHES, E.C., Nan NESS, A.W., LLOYD,C.W. : The nutritional value of the endometrium for implantation and in habitual abortion. Amer.J.Obstet.Gynec.59, 1292 - 13o3 (195o)

28. JONES, H.W., WADE, R., GOLDBERG, B. : Biochemical and histochemical alkaline glycerophosphatase in normal endometrium, endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. Amer.J.Obstet.Gynec. 64, 1364 - 1367

29. KABAT, K., FURTH, J. : Histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. Amer. J. Path. 17, 3o3 - 318 (1941)

3o. KÄSER, O. : Gynäkologie und Geburtshilfe Bd. III, S. 473 - 478 Georg Thieme Verlag Stuttgart

31. LEMON, H.M., DAVISON, M.M., ASIMOV, I. : Acid phosphatase activity of normal and neoplastic human tissues. Cancer 7, 92 - 99 (1954)

32. LEWIN, E. : Histochemische Untersuchungen an Uterusschleimhäuten. Z.Geburtsh.Gynäk. 157, 196 - 223 (1961)

33. LIMBURG, H., KRAHE, M. : Die Züchtung von menschlichem Carcinomgewebe in der Gewebekultur und seine Sensibilitätstestung gegen neue Zytostatica. Dtsch. med. Wschr. 89, 1938 (1964)

34. LONG, M.E. : Histochemistry of endometrial carcinoma. Acta Cytologica 2, 494 - 5o4 (1958)

35. LONG, M.E., DOKO, F. : Cytochemical studies on nonmalignant and malignant human endometria. Ann.N.Y. Acad.Scien. 75, 5o4 - 523 (1959)

36. McKAY, D.G., HERTIG, A.T., BARDAWILL, W.A., VELARDO, J.T. : Histochemical observation on the endometrium. I normal endometrium. Obstet. and Gynec. 8, 22 - 39 (1956)

37. McKAY, D., HERTIG, A.T., BARDAWILL, W.D., VELARDO, J.T. : Histochemical observation on the endometrium. II. abnormal endometrium. Obstet. and Gynec. 8, 14o - 156 (1956)

38. MOOG, F. : The physiological significance of the phosphomonoesterases. Biol.Rev. 21, 41 - 59 (1946)

39. MORTON, R.K. : Transferase activity of hydrolytic enzymes. Nature London 172, 65 - 68 (1953)

4o. MYRBÄCK, K., BOYER, P.D., LARDY, H., STADTMAN, Th.C. : Alkaline phosphatase. The enzymes. Academic Press New York 55 - 71 (1961)

41. NOVAK : Gynecologic and Obstetric Pathology, S. 17o W.B. Saunders Company Phila.London

42. OBER, K.G. : Die wechselnde Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Endometrium und Ovar während des menstruellen Zyklus sowie im Myometrium unter der Geburt. Klin.Wschr. 28, 9 - 16 (195o)

43. OBER, K.G., WEBER, M. : Beitrag zur Progesteronwirkung. Klin.Wschr. 29, 53 - 55 (1951)

44. RUNGE, H. : Die Bedeutung der Histochemie für die Gynäkologie. Klin.Fortschr. "Gynäkologie" S. 17o - 175 Urban u. Schwarzenberg Verlag Wien

45. RUTENBURG, A.M., SELIGMAN, A.M. : The histochemical demonstration of acid phosphatase by post-incubation coupling technique. J. Histochem.Cytochem. 3, 455 - 47o (1955)

46. SCHMIDT MATTHIESEN : Habilitationsschrift (1961) Göttingen

47. SCHMIDT MATTHIESEN : Das normale menschliche Endometrium. Georg Thieme Verlag Stuttgart S. 165 - 168 (1963)

48. SIEBERT, G. : Biochemie der Enzyme (unter besonderer Berücksichtigung der Histochemie). Acta histochem. 2, 122 - 134 (1956)

49. STOLL, P., EBNER, H., LINDENSCHMITT, W. : Die Bedeutung histochemischer Methoden für die gynäkologische Histo- und Zytodiagnostik. Geburtsh. u. Frauenheilk. 14, 1o65 - 1o81 (1954)

5o. SUMMER, J.B., SOMMERS, G.F. : Chemistry and Methods of Enzymes. Ed. 3 Akademic Press New York.

51. WISLOCKI, G.B. : The chemical histology of the human uterine cervix with supplementary notes on the endometrium. Menstruation and its Disorders Engle E.T.a. Thomas Ch. Springfield 23 - 42 (195o)

52. VELARDO, J.Th., ROSA, Ch.G. : Handb.d.Histochemie VII/3 Female genital system Fischer Verlag Stuttgart S. 23 - 4o

Herrn Professor Dr. med. H. LIMBURG, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Homburg/Saar, danken wir für die Überlassung des Themas.

Herrn Professor Dr. med. A.S. TRANEKJER, Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik Homburg/Saar, danken wir für seine Anleitung und seinen freundlichen Rat.

Weiterhin danken wir Frau A. BRACHETTI und Frau DEBOLD für ihre wertvolle Hilfe bei der Anzüchtung der Gewebekulturen.

LEBENSLAUF

Ich, Erlend Hansen, wurde am 7. 9. 1946 in Warendorf als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Hieronymus Hansen und seiner Frau Dr. med. Ruth Hansen, geborene Pohlmann, geboren. Nachdem meine Eltern ihren Wohnort nach Edenkoben verlegten, besuchte ich von 1952 bis 1957 die Volksschule in Edenkoben.

Im Jahre 1957 wechselte ich an das Leibniz Gymnasium nach Neustadt/Weinstraße über. Nach bestandenem Abitur im Jahre 1966 begann ich in Köln das Studium der Medizin. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Herbst 1969.

Die klinischen Semester absolvierte ich an der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar. Im Dezember 1972 legte ich das Medizinische Staatsexamen in Homburg/Saar ab.
Seit dem 1. 4. 1973 arbeite ich als Medizinalassistent an der Universitäts-Augenklinik in Homburg/Saar.

LEBENSLAUF

Ich, Rüdiger Uhr, wurde am 18. 2. 1944 als Sohn des Schreinermeisters Horst Uhr und seiner Ehefrau Evamaria Uhr, geborene Schneider in Aurich/Ostfriesland geboren.

Von 195o bis 196o besuchte ich die allgemeinbildende polytechnische Oberschule in Dresden-Niedersedlitz. Meine Reifeprüfung legte ich am Aufbaugymnasium in Ottweiler/Saar 1966 ab.

Im Sommersemester 1966 begann ich das Studium der Medizin an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. Im Herbst 1969 bestand ich die ärztliche Vorprüfung in Homburg/Saar.
Das Staatsexamen legte ich im Wintersemester 1972 an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar ab.